

SÉRIE A, n° 486
N° D'ORDRE : 209

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PAR

曾 愼

TSEN-CHENG

Licencié ès sciences

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES SUR LA MALADIE DE DÉGÉNÉRESCENCE
(ENROULEMENT) CHEZ *Solanum Tuberosum*.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

soutenues le

, devant la Commission d'examen.

Président : M. E. RABAUD

Examinateurs : { M. A. GUILLIERMOND
M. COMBES

PARIS

IMPRIMERIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

JOUVE & C^e ÉDITEURS

16, RUE RACINE, 15

1929

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PAR

曾 愼

TSEN-CHENG

Licencié ès sciences

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES SUR LA MALADIE DE DÉGÉNÉRESCENCE

(ENROULEMENT) CHEZ *Solanum Tuberosum*.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

soutenues le

, devant la Commission d'examen.

Président : M. E. RABAUD

Examineurs : { M. A. GUILLIERMOND
M. COMBES

PARIS

IMPRIMERIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

JOUVÉ & C^e ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1929

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen Ch. MAURAIN, *Professeur*, Physique du globe.
Doyens honoraires . . . P. APPELL, M. MOLLIARD.

Professeurs honoraires.
V. BOUSSINESQ.
A. JOANNIS.
H. LE CHATELIER.
H. LEBESGUE.
A. FERNBACH.
A. LEDUC.
R. DONGIER.
E. HÉROUARD.

ÉMILE PICARD Analyse supérieure et algèbre supérieure.
G. KOENIGS Mécanique physique et expérimentale.
E. COURSAT Calcul différentiel et calcul intégral.
P. JANET Electrotechnique générale.
F. WALLERANT Minéralogie.
H. ANDOYER Astronomie.
P. PAINLEVÉ Mécanique analytique et mécanique céleste.
Gabriel BERTRAND Chimie biologique.
M^{me} P. CURIE Physique générale et radioactivité.
M. CAULLERY Zoologie (Évolution des êtres organisés).
G. URBAIN Chimie générale.
Émile BOREL Calcul des probabilités et Physique mathém.
L. MARCHIS Aviation.
Jean PERRIN Chimie physique.
Rémy PERRIER Zoologie (Enseignement P.C.N.).
H. ABRAHAM Physique.
M. MOLLIARD Physiologie végétale.
E. CARTAN Géométrie supérieure.
L. LAPICQUE Physiologie générale.
E. VESSIOT Théorie des fonctions et théorie des trans-

Professeurs formations.
A. COTTON Physique générale.
J. DRACH Application de l'analyse à la géométrie.
Charles FABRY Physique.
Charles PÉREZ Zoologie.
Léon BERTRAND Géologie structurale et géologie appliquée.
R. LESPIEAU Théories chimiques.
E. RABAUD Biologie expérimentale.
P. PORTIER Physiologie comparée.
E. BLAISE Chimie organique.
P.-A. DANGEARD Botanique.
Paul MONTEL Mécanique rationnelle.
P. WINTREBERT Anatomie et Histologie comparées.
O. DUBOSCQ Biologie maritime.
G. JULIA Mathématiques générales;
A. MAILHE Étude des combustibles.
L. LUTAUD Géographie physique et géologie dynamique.
Eugène BLOCH Physique théorique et physique céleste.
Henri VILLAT Mécanique des fluides et applications.
Ch. JACOB Géologie.
P. PASCAL Chimie appliquée.
N. Chimie minérale.



E. PÉCHARD Chimie (Enst P.C.N.).
V. AUGER Chimie analytique.
M. GUICHARD Chimie minérale.
A. GUILLET Physique.
C. MAUGUIN Minéralogie.
L. BLARINGHEM Botanique.
A. MICHEL-LÉVY Pétrographie.
A. DEREIMS Géologie.
A. DENJOY Calcul différ^l et intégr^l.
H. BÉNARD Physique (P.C.N.).
E. DARMOIS Physique.

G. BRUHAT Physique.
H. MOUTON Chimie physique.
L. JOLEAUD Paléontologie.
M. JAVILLIER Chimie biologique.
A. DUFOUR Physique (P.C.N.).
F. PICARD Zoologie (Evolution des êtres organisés).
ROBERT-LÉVY Zoologie.
L. DUNOYER Optique appliquée.
A. GUILHERMOND Botanique (P.C.N.).
A. DEBIERNE Radioactivité.

Secrétaire Daniel TOMBECK

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
<i>Introduction</i>	5
<i>Chapitre I. — Historique</i>	8
1. Anatomie	9
2. Physiologie.....	11
3. Etiologie.....	13
<i>Chapitre II. — Matériel et Technique</i>	15
A) Matériel.....	15
B) Technique.....	16
<i>Chapitre III. — Cytologie</i>	25
I. Etude cytologique des bourgeons de tubercules...	30
II. Etude cytologique des tiges.....	33
III. Etude cytologique des tubercules.....	38
IV. Etude cytologique des feuilles.....	40
<i>Chapitre IV. — Anatomie</i>	48
I. Structure de la tige des plantes saines.....	48
II. Structure de la tige des plantes malades.....	50
III. Microchimie de la nécrose du liber.....	55
<i>Chapitre V. — Recherches sur la présence des parasites</i> ...	60
A) Frottis.....	61
B) Coupes fraîches.....	62
C) Coupes fixées et colorées.....	63
<i>Chapitre VI. — Etude histochimique du contenu cellulaire</i> ...	66
A) Glucides :	
1. Recherches des glucoses.....	66
2. Recherches de l'amidon.....	67
3. Recherches des Hétéroglucosides	68
a) Solanoside.....	68
b) Anthocyane.....	69

c) Tanin.....	69
B) Lipides :	
Recherche des graisses.....	74
C) Protides :	
1. Recherche des protéines.....	74
2. Recherche des acides aminés.....	76
a) Tyrosine.....	76
b) Leucine.....	77
c) Asparagine.....	77
D) Remarques sur les modifications de la Chloro- phyllé.....	77
<i>Chapitre VII. — Quelques faits d'ordre physiologique...</i>	79
1. Modifications de la pression osmotique.....	79
2. Modifications de l'acidité (Mesure du pH vacuo- laire).....	81
3. Influence de la lumière.....	82
1 ^o Méthode expérimentale.....	82
2 ^o Examen histologique et microchimique.....	83
<i>Résumé.....</i>	84
<i>Conclusions.....</i>	89
<i>Bibliographie.....</i>	90
<i>Explication des planches.....</i>	105

RECHERCHES
SUR LA
MALADIE DE DÉGÉNÉRESCENCE
(ENROULEMENT)
Chez *SOLANUM TUBEROSUM*

INTRODUCTION

La culture de la pomme de terre, en France, est très importante : chaque année le rendement est en moyenne de 120 millions de quintaux.

Depuis quelques années, on a constaté dans certaines régions une diminution dans la production, diminution causée par diverses maladies, notamment celles dites de la Dégénérescence.

La dégénérescence de la pomme de terre peut être attribuée à deux maladies :

1^o *Maladie de l'enroulement*. — Les feuilles cessent d'être planes et leurs bords s'incurvent, la plante reste basse et chétive. Les plantes atteintes d'enroulement possèdent des feuilles plus ou moins dressées selon la gravité du mal ; elles restent souvent complètement appliquées contre la tige ; les folioles sont dures, cassantes et, à la fin, enroulées en cornet ou en entonnoir. La face inférieure des feuilles devient fréquemment rougeâtre, violacée ou jaunâtre ; elle a quelquefois un reflet métallique, argenté ou plombé.

Au début de la maladie seules les feuilles de la base

présentent des déformations, mais plus tard, toutes les feuilles peuvent être enroulées. Dans ce cas, les entrenœuds restent courts et la longueur des folioles se réduit ; les tubercules, peu nombreux, sont de petite taille ; souvent le tubercule mère ne se vide pas pour fournir des aliments à la plante et on le retrouve presque intact à la récolte.

2° *Maladie de la mosaïque.* — Les feuilles peuvent rester planes ou bien s'enrouler et parfois prendre un aspect frisé ; elles perdent partiellement la teinte verte et montrent çà et là des *taches claires* ou *jaunâtres*.

Quand la maladie est peu accentuée, la récolte n'est que faiblement diminuée, mais elle s'abaisse d'années en années à mesure que le mal s'aggrave. Les tubercules deviennent de plus en plus petits et demeurent groupés autour de la mère qui peut rester intacte pendant tout le cours de la végétation.

La maladie de l'enroulement est la plus fréquente et la plus grave des trois maladies de dégénérescence. Elle a fait l'objet de nombreux travaux, et cependant le dernier mot n'a pas encore été dit sur la question ; les recherches, diversement orientées, sont loin d'avoir fourni une solution satisfaisante. Il nous a paru intéressant de reprendre le sujet en l'envisageant surtout au point de vue histologique et microchimique.

Ce travail a été fait sous les auspices de M. le professeur Guilliermond qui a bien voulu nous accueillir dans son laboratoire ; nous avons été initié par lui aux méthodes nouvelles de technique qui nous ont permis de mettre au point de nombreuses questions jusqu'ici controversées. L'emploi judicieux des colorants vitaux en particulier nous a été d'un grand secours dans nos recherches. Nous remercions bien sincèrement notre maître qui a été pour nous un guide sûr et éclairé.

M. Foëx, Directeur de la Station Centrale de Pathologie végétale et M. Ducomet, Professeur à l'Ecole de Grignon, ont grandement favorisé notre tâche en nous aidant de leurs précieux conseils et en nous fournissant des matériaux d'étude.

Nous adressons également nos remerciements sincères à M. Beauverie, dans le laboratoire duquel nous avons commencé nos recherches et M. Dauphiné qui nous a aidé de sa haute compétence dans les questions d'anatomie, ainsi que MM. Combes, Parat, Mangelot, Eichhorn, Russell dont les conseils nous ont été si précieux.

Nous remercions également M. J. Lepine, Doyen de la Faculté de médecine de Lyon, Président de l'Association universitaire Franco-Chinoise de Lyon, M. Favre, Directeur P. I., de l'Institut Franco-Chinois de Lyon, M. Courant, secrétaire de l'Association Universitaire Franco-Chinoise de Lyon, M. Tsai Yuen Pei, Promoteur et Président de l'Association universitaire Franco-Chinoise de Lyon, M. Li Yu Ying, Promoteur de l'Institut Franco-Chinois de Lyon, M. Wond Chi Ilivei, Promoteur et Directeur honoraire de l'Institut Franco-Chinois de Lyon, M. le Dr Tsu Min Yee, Promoteur et ancien Sous-Directeur de l'Institut Franco-Chinois de Lyon, M. Liou Ho, Secrétaire général de l'Institut Franco-Chinois de Lyon qui nous ont fourni les moyens nécessaires pour poursuivre nos études et ont toujours été pleins de bienveillance à notre égard.

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE

La maladie de l'Enroulement est connue depuis longtemps, mais les premiers observateurs l'ont fréquemment confondue avec la Mosaïque et ses diverses formes. Ce n'est qu'en 1903 que Appell, en Allemagne (1), a reconnu que cette maladie avait des caractères propres.

Après la publication du travail d'Appell, nombreux sont les savants qui ont fait des observations sur la maladie de l'Enroulement.

Blanchard et Perret ont signalé les premiers cette maladie dans le centre de la France, en 1911-1912 ; Foëx l'a observée dans le Nord, en 1914 ; Quanjer depuis 1913 jusqu'à nos jours n'a cessé de l'étudier aux Pays-Bas.

Depuis la guerre, Ducomet a fait des études d'une grande importance sur les maladies de la dégénérescence ; Foëx lui a prêté son concours.

Les méthodes de sélection imaginées par Quanjer et mises au point par Ducomet ont été appliquées avec succès dans plusieurs régions françaises et notamment en Bretagne par Duboys, Professeur à l'Ecole d'Agriculture de Rennes.

Parmi les autres savants qui ont apporté leur contribution, il convient de citer Orton (U. S. dep. Agr. Bul. 64,

1. Il ne faut pas confondre l'enroulement de nature pathologique transmissible d'une plante à l'autre, avec le faux enroulement qui a des origines, diverses (excès de chlorure, sécheresse, infections bactériennes, etc...)

p. 48. 1914) Schander et Tiesenhausen (*Ztschr. Pflanzen-Krank*, 1914), Von Brehmer (Report of the international Conference of Phytopathologie. 1923).

Les observations effectuées sur la maladie de l'enroulement n'ont été le plus souvent que d'ordre morphologique.

Cependant, quelques recherches histologiques et physiologiques ont été effectuées.

1. **Anatomie.** — Dès 1913, Quanjer a constaté que l'enroulement était caractérisé par la nécrose du liber et a proposé le remplacement du terme « enroulement » par celui de : leptonécrose (de leptome = liber), l'altération de ce tissu conducteur serait, d'après lui, la cause de la maladie par suite de la difficulté de transport des matières nutritives contenues dans le tubercule mère vers les parties aériennes et inversement, de l'impossibilité du cheminement de la sève élaborée par les feuilles vers les appareils souterrains.

Le rabougrissement de la plante et le moindre développement de ses tubercules seraient, en quelque sorte, la conséquence d'un faible afflux de substances nutritives.

Peu après Quanjer, Schauder et Tiesenhausen ont reconnu que le phénomène de nécrose s'observe aussi bien chez les plantes à feuilles enroulées que chez celles atteintes de frisolée, attaquées par le *Phytophthora* ou même simplement enroulées artificiellement (folioles enroulées à la main et liées avec une ficelle). La nécrose pour eux n'est pas quelque chose de primaire, mais quelque chose de secondaire ; elle est la conséquence d'une entrave des fonctions de l'appareil d'assimilation.

Esmarch estime que la nécrose doit être considérée comme un phénomène d'altération propre à la Pomme de Terre ; son apparition précoce serait le symptôme d'une maturité anticipée, déterminée par un état maladif.

Artschwager, aux Etats-Unis, a étudié le contenu cellulaire et les membranes des plantes malades. Il admet que la formation des tissus nécrotiques n'est pas spéciale aux plantes victimes de la maladie de l'enroulement et se retrouve chez toutes les plantes atteintes de dégénérescence. Selon lui, les premiers symptômes s'observent dans le liber particulièrement au-dessous de l'insertion des feuilles ; ils consistent dans la délamination des membranes cellulaires avec formation de fentes où s'accumule une matière jaune qui plus tard colore les parois. Les cellules malades se remplissent ensuite d'un dépôt granuleux qui paraît être du protoplasme métamorphosé (probably metamorphosed protoplasm).

Foëx ainsi que Artschwager ont reconnu que la nécrose peut s'étendre aux tissus voisins du liber ; elle peut intéresser le tissu cortical, le péricycle et même le jeune bois.

Foëx est également d'accord avec Artschwager en ce qui concerne les débuts de la maladie qui commencerait à se manifester dans les angles cellulaires pour progresser ensuite dans la direction de la cavité de la cellule ; mais l'altération nécrotique, selon lui, n'est pas autre chose qu'un processus de dégénérescence pectique qui n'est pas poussé assez loin pour aboutir à la production d'un flux gommeux comme cela s'observe dans le liber de beaucoup d'Acacias ; l'arrêt du gonflement pectique serait dû au durcissement des éléments nécrosés consécutif à une apparition rapide de lignine et de subérine.

Ducomet admet que l'altération libérienne n'est qu'un phénomène tardif qui peut ne pas se produire chez certaines plantes malades. Comme Foëx et Artschwager, il est d'avis que le phénomène de nécrose débute non dans l'intérieur des cellules, mais dans l'épaisseur des membranes et particulièrement aux angles. Les membranes

réagissent énergiquement vis-à-vis des colorants pectiques et de ceux de la lignine.

Oortwijn Botges a admis que l'enroulement précédait la leptonécrose au lieu d'être précédé par elle.

Pour von Brehmer, les plantes saines peuvent être atteintes de nécrobiose et d'oblitération, mais n'offrent jamais le phénomène de nécrose; chez les plantes malades à feuilles enroulées, on observe toujours des modifications du liber d'origine nécrotique et plus rarement des oblitérations.

A l'inverse de la nécrose, la nécrobiose et l'oblitération sont des maladies de vieillesse. Ces deux dernières sont très différentes l'une de l'autre.

D'après ses observations, le contenu des cellules nécrotiques a un caractère plus acide que celui des cellules voisines.

Comme Foex, l'auteur a reconnu que la maladie débute dans les tubes criblés et s'étend ensuite dans le parenchyme libérien et les tissus qui l'entourent.

2. Physiologie. — Les plantes atteintes d'enroulement renferment, d'après Speeckerman, une proportion en azote bien supérieure à celle qu'on peut déceler dans les végétaux sains. Cet excès d'azote provient, selon Quanjer, des difficultés que les matières albuminoïdes éprouvent à circuler dans les tubes criblés altérés.

Oortwijn Botges, et Quanjer, ainsi que Murphy, ont reconnu que l'un des caractères essentiels de l'enroulement est dans la difficulté qu'éprouve l'amidon à passer par les tubes criblés : pendant la nuit, l'amidon disparaît des feuilles saines pendant qu'il persiste dans les feuilles enroulées.

L'amidon peut résister dans des feuilles ne présentant en apparence aucun phénomène de nécrose, mais qui plus

tard, néanmoins s'enrouleront. Ducomet en tire la conclusion que la *persistance de l'amidon précède l'enroulement*, comme l'enroulement précède la leptonécrose.

Artschwager est d'avis que l'accumulation de l'amidon dans les feuilles malades, ainsi que la coloration rougeâtre que prennent ces feuilles, est en relation avec la difficulté de circulation des matières nutritives, en particulier quand le liber de la tige est nécrosé au voisinage de l'insertion des feuilles.

D'après Quanjer, le froid, la sécheresse peuvent hâter l'apparition des premiers symptômes. L'exposition à une vive lumière agirait de la même façon.

L'azote, pour Blanchard, a une influence directe ou indirecte, et ce serait à une faim d'azote que devrait être attribuée la maladie.

Ducomet admet que la pénurie ou la richesse en azote n'intervient que pour accentuer ou réduire les symptômes de la maladie.

Selon Beauverie, l'enroulement est accompagné d'une vésiculation des chloroplastes, suivie d'éclatement : le gonflement des plastes serait dû à un état d'hypotonie du milieu. Pour vérifier cette hypothèse, on a monté des coupes dans l'eau et on a constaté qu'au bout de quelque temps les plastes des cellules lésées se gonflent en une forte bulle hyaline avec des granules incolores à la périphérie, tandis que le pigment vert reste à l'état de capuchon sur un pôle de la bulle. Cette vésiculation, déjà observée par Guilliermond pour les mitochondries, se manifeste rarement chez les chloroplastes normaux. La déformation des chloroplastes, d'après Beauverie, est due à la faible teneur en sucre du suc cellulaire, les petites molécules de glucose devenant, par condensation, des molécules plus grosses, mais moins nombreuses, d'amidon; il en résulterait un abais-

sement de la tension osmotique suivi de la fragilité des plastes.

3. **Etiologie.** — Les auteurs ne sont pas d'accord sur l'origine et les causes de la maladie de l'enroulement.

On a successivement émis les théories suivantes :

1^o Théorie de la dégénérescence par abus de la multiplication asexuée. Cette théorie a été surtout soutenue en Allemagne (Théorie de l'Abbau). Elle n'a plus, actuellement, que de rares partisans.

2^o Théorie de la dégénérescence par culture trop prolongée dans le même milieu (Nécessité de faire venir les tubercules de semence de l'extérieur). La plupart des agriculteurs admettent encore que le « dépaysement » est une nécessité. De nombreux faits montrent qu'il n'en est rien.

3^o Théorie de la dégénérescence sous l'action de certains climats, notamment les climats des régions situées en plaine, dans les pays tempérés chauds. On suppose qu'on a intérêt à aller prendre les tubercules de semence dans les stations à altitudes élevées ou à latitude septentrionale.

4^o Théorie parasitaire. Les maladies de dégénérescence seraient déterminées par des parasites nettement visibles (Bactéries ou Champignons).

Stoermer et Speckerman ont cru reconnaître la présence d'une Bactérie (*Bacterium Sapedonicum*) dans les vaisseaux du bois. Appel (1903) est également partisan d'une bactériose.

D'après Himmelbaur (1914), l'enroulement serait provoqué artificiellement par l'inoculation de cultures de *Fusarium* ou de *Verticillium*.

Massee (1906) tient pour responsable le *Macrosporium Solani* dont le mycelium hivernerait dans les tubercules

ce qui expliquerait la perpétuation du mal sous l'effet de la multiplication.

Les idées de Masocie basées sur des expériences faites à Kew, sont encore acceptées par Martin Duncan (*Insect. Pest and Plant diseases* 1919).

Nelson (*The occurrence of Protozoa in plants affected with Mosaic and related diseases*) a signalé la présence de Protozoaires dans certaines maladies du Trèfle, de la Tomate et en particulier dans les Pommes de Terre atteintes d'enroulement.

5° Théorie du principe infectieux non figuré (virus filtrant). Les maladies de dégénérescence entreraient dans le cadre des maladies à virus filtrant.

6° Théorie physiologique. La maladie résiderait dans les troubles physiologiques qui pourraient être déclenchés par la pénétration d'une très faible quantité de suc d'un végétal malade.

A part GAGET, dont l'opinion ne résulte que d'une impression et non d'une étude précise, les auteurs n'attribuent pas aux pucerons d'autre rôle que celui de propagateur du principe infectieux. On peut dire qu'actuellement tous ceux qui ont étudié sérieusement les maladies de dégénérescence et, en particulier, Quanjer et ses élèves, estiment que les Aphidiens et d'autres insectes sont les agents « vecteurs » du mal.

CHAPITRE II

MATÉRIEL ET TECHNIQUE

A. — Matériel.

Nos recherches ont porté sur plusieurs variétés de *Solanum tuberosum* atteintes de la maladie de l'enroulement que nous avons comparées avec des plantes saines appartenant aux mêmes variétés.

Nous avons pu, grâce à la bienveillance de M. Ducomet, obtenir des sujets cultivés à Grignon où une grande sélection a été opérée par les soins de cet éminent maître. Les variétés que nous avons étudiées sont les suivantes :

1° *Triumph*. — Le Triumph est un tubercule de forme variable, en général ronde ou allongée : sa peau est incolore, sa chair est jaunâtre. Les germes ont une coloration rose. Les tiges sont vertes et les scions sont étalés. Les fleurs sont blanches.

Cette variété est peu sensible à la maladie de l'enroulement, de même qu'à la galle verruqueuse et au Mildiou.

2° *Fluke*. — Le Fluke a des tubercules de forme oblongue ; sa peau est incolore ; sa chair est blanche ; les germes ont une coloration rose pâle. Les fleurs sont violacées. Cette variété, moins résistante que la précédente, est souvent victime de la maladie de l'enroulement ; elle est peu sujette à la galle verruqueuse, mais est fréquemment atteinte de Mildiou.

3° *Great Scot*. — Le Great Scot a des tubercules de

forme ronde ; sa peau est incolore : la chair est jaune pâle ; les germes sont roses. Les fleurs sont blanc pur.

De même que le Fluke, le Great Scot est assez sensible à la maladie de l'enroulement ; il résiste à la galle verruqueuse, mais le Mildiou l'attaque assez souvent.

4^o *La Czarine*. — La Czarine a des tubercules ronds ; leur peau est panachée de rouge, leur chair est blanche. Les germes, insérés dans des dépressions assez profondes, sont piquetés de taches de couleur carmin. La tige est robuste et abondamment ramifiée. Les fleurs sont pourpres.

La Czarine présente presque toujours la maladie de l'enroulement ; néanmoins, elle résiste à la galle verruqueuse ; le Mildiou l'attaque fréquemment.

5^o *Arran camrade*. — L'Arran camrade a des tubercules ronds, leur peau est incolore ; leur chair est blanche ; les germes sont violet clair ; les tiges sont plus ou moins étalées et les fleurs blanches.

Cette variété est une de celles sur lesquelles les maladies ont le plus de prise ; la maladie de l'enroulement s'observe chez tous les pieds, il en est de même de l'affection due au *Phytophthora* ; la galle verruqueuse, un peu moins fréquente que les deux maladies précédentes, est néanmoins très répandue.

Nous avons suivi avec soin les divers stades de la végétation des plantes étudiées, en partant des tubercules jusqu'à la floraison et la maturation des graines ; les plantes que nous avons cultivées provenaient de lignées isolées de plantes malades.

B. — Technique.

§ 1^{er}. — L'ÉTUDE VITALE

Nous avons employé, comme milieu pour le cytoplasme vivant, des solutions de la composition suivante :

A. Saccharose.....	7 gr. 5
Eau distillée.....	100 cc.
B. Chlorure de Sodium.....	3 gr.
Eau distillée.....	100 cc.

Les colorants vitaux dont nous nous sommes servis étaient le rouge neutre et le bleu de méthylène. Ces colorants ont été dissouts dans la solution A à froid et dans la solution B à chaud ; la proportion de colorant a été de 1 gr. pour des quantités variables de liquide, généralement de 30.000 cc. à 50.000 cc. de liquide.

On sait que les colorants vitaux ne sont pas toxiques, au moins à faibles doses, au contact du cytoplasma vivant qui est réducteur, leur solution se décolore ; certaines enclaves cytoplasmiques peuvent les régénérer, les fixer et par conséquent se colorer sans que le fonctionnement de la cellule soit troublé.

2° Pour l'examen post-vital, nous avons également employé des colorants qui n'agissent qu'après la mort du cytoplasma, mais permettent de reconnaître certains polysaccharides, le tanin, les composés pectiques, les matières grasses et albuminoïdes, etc..., nous reviendrons sur ce sujet lorsque nous exposerons en détail nos recherches microchimiques.

§ 2. — MÉTHODES DE FIXATION ET DE COLORATION

1. — MÉTHODES CYTOLOGIQUES

a) *Fixation.*

La coloration du cytoplasme et de ses enclaves ne peut s'effectuer qu'après fixation, mais il faut agir avec prudence quand on emploie un fixateur ; on sait en effet qu'il n'y a pas de fixateur unique qui permette de mettre en évidence les inclusions nombreuses du protoplasma.

Il faut se servir de réactifs nombreux et c'est par comparaison qu'on peut avoir une idée de la constitution d'une cellule.

Nous avons employé deux sortes de fixateurs ; les uns agissant sur le noyau, les autres sur le cytoplasme.

1. Fixateurs nucléaires.

1. Picroformol de Bouin :

Solution aqueuse saturée d'acide picrique.....	30 vol.
Formol du commerce à 40 %.....	10 vol.
Acide acétique cristallisable.....	2 vol.

2. Sublimé alcoolique de Schaudinn :

Solution aqueuse saturée de sublimé.....	2 vol.
Alcool absolu.....	1 vol.

3. Fixation par l'alcool absolu.

2. Fixateurs cytoplasmiques.

Ces fixateurs ne doivent renfermer ni alcool ni acide acétique. Le plus simple est le formol commercial qui, au bout de 24 heures, donne souvent de bons résultats.

Les autres fixateurs qui nous ont servi sont :

1. Fixateur de Benda ainsi composé :

Solution d'acide osmique à 2 %.....	15 cm ³
Solution d'acide chromique à 1 %.....	4 cm ³
Acide acétique cristallisable.....	3 à 4 gouttes

La fixation des objets doit durer huit jours ; après un lavage sommaire, on les place pendant 24 heures dans la solution suivante :

Solution d'acide chromique à 1 %.....	} quantités égales
Acide pyroligneux rectifié, q. s.....	

Après rinçage, les objets sont plongés dans un nouveau bain formé par une solution de bichromate de potassium à 3 %.

Nous avons souvent, d'accord avec Meves, supprimé l'emploi de l'acide acétique ; notre formule réduite étant formée de deux éléments seulement :

Solution d'acide osmique à 2 %.....	5 parties
Solution d'acide chromique à 1 %.....	15 parties

Le procédé de fixation de Benda permet de mettre en évidence le chondriome et aussi de colorer les matières grasses du cytoplasme et le tanin du vacuome.

2. *Fixateur de Regaud.* — Le fixateur de Regaud peut être employé avec succès pour reconnaître le chondriome : il est même dans certains cas préférable à celui de Benda, car il pénètre plus facilement dans les cellules.

La technique adoptée par Regaud est la suivante : Les objets sont fixés pendant au moins 4 jours dans :

Solution aqueuse de bichromate de K. à 3 %	80 parties
Formol du commerce.....	20 parties

Après cette fixation, on les fait séjourner dans le bain suivant : solution aqueuse de bichromate de potasse à 3-5 %.

Le séjour dans ce bain doit être d'au moins 10 jours.

b) *Coloration.*

La coloration permet de mettre en évidence divers éléments de la cellule, mais aucune n'est réellement spécifique puisque des colorants semblables donnent des images différentes avec des fixateurs différents :

Nous avons employé les méthodes suivantes :

1° *Héματοxyline ferrique de Heidenhain :*

Les coupes sont plongées pendant 24 heures dans une solution d'alun de fer ammoniacal à 5 %. Après lavage

rapide, on les place dans la solution suivante recommandée par Regaud :

Eau distillée.....	80 cm ³
Alcool à 95°.....	10
Glycérine.....	10 cm ³
Hématoxyline.....	1 gr.

Les préparations sont colorées au bout de 24 heures, mais elles présentent une teinte noir homogène. Pour les différencier, on les décolore légèrement en les plaçant dans un bain d'alun de fer à 3 %, en surveillant de temps en temps au microscope et en arrêtant la différenciation quand on le juge opportun.

L'hématoxyline ferrique ne donne pas de teinte au cytoplasme fondamental, mais colore les chondriosomes en noir ; pour mettre en évidence le cytoplasme, on place les préparations colorées par l'hématoxyline dans une solution d'éosine ou d'érythrosine à 0,5 gr. par 100 cc. Le cytoplasme est teint en rose et les vacuoles restent incolores.

2° *Fuchsine acide*. Nous avons utilisé les formules d'Altmann et de Küll.

La méthode d'Altmann est la suivante :

Eau anilinée saturée.....	100 cc.
Fuchsine acide.....	20 gr.

Le colorant est versé sur la coupe que l'on chauffe jusqu'à production de vapeur. Après refroidissement, on enlève l'excès de la solution de fuschine et l'on plonge quelques minutes la préparation dans une solution alcoolique saturée d'acide picrique.

Nous avons constaté qu'il était inutile d'employer 20 gr. de fuchsine, et nous avons limité le poids de ce colorant à 10 gr.

La méthode de coloration de Küll consiste à colorer les coupes d'abord par la fuchsine acide selon la méthode d'Altmann, puis après lavage à placer les coupes pendant quelques minutes dans une solution aqueuse de bleu de toluidine ou de thionine à 0,5 %. On lave ensuite les coupes et on différencie dans une solution alcoolique d'aurantia à 0,5 %. Le bleu de toluidine et la thionine colorent en bleu les grains d'amidon.

On peut aussi employer la méthode de Duesberg. Les préparations colorées par la fuchsine comme précédemment sont différenciées dans une solution de vert de méthyle à 1 % dans l'eau distillée (1).

3° *Méthode de Benda*. Cette méthode, lorsqu'elle réussit, fournit de belles préparations, mais elle est tellement inconstante que nous ne l'avons que très rarement utilisée. Voici en quoi elle consiste.

Les coupes sont soumises pour le mordantage à l'action de l'alun de fer ammoniacal à 5 % pendant 24 heures. Après lavage, on les place dans une solution de sulfalizarinate de soude.

Les coupes restent 24 heures dans la solution ; puis on les fait sécher sans lavage, entre deux feuilles de papier buvard, on les recouvre ensuite d'un liquide colorant constitué par une solution alcoolique de violet cristal à 3 % dilué d'un égal volume d'eau anilinée saturée. On chauffe jusqu'à production de vapeur, puis après avoir enlevé l'excès de colorant on plonge les coupes dans une solution d'acide acétique à 30 % pendant 2 minutes. On lave à l'eau courante (10) puis on monte.

Les chondriosomes et les plastes sont colorés en bleu violet, les noyaux ont une teinte brun-rouge.

1. Nous avons remplacé le bleu de toluidine par le vert de méthyle à 1 %.

Quel que soit le procédé de coloration, si on a employé de l'acide osmique, il faut faire disparaître celui-ci par oxydation ; on immerge les coupes dans une solution aqueuse de permanganate de potassium à 1 % et dans une solution d'acide oxalique à 4 %.

Pour les coupes traitées au sublimé, il faut employer la solution iodo-iodurée de Lugol, puis l'hyposulfite de soude à 0 gr. 50 ‰. Ce dernier réactif fait disparaître les traces d'iode qui pourraient masquer la préparation tandis que l'iode ioduré a pour but d'éliminer le bichlorure de mercure.

Pour déceler l'amidon, le glycogène et la dextrine, nous avons employé la solution suivante :

Eau.....	100 cm.
Iode.....	4 gr.
Iodure de K.....	6 gr.

Les techniques décrites ci-dessus, sont celles que l'on utilise le plus fréquemment. Nous avons eu recours à d'autres méthodes lorsqu'il s'est agi de résoudre certains problèmes particuliers : recherches de Protozoaires, des Bactéries, etc..

II. — MÉTHODES ANATOMIQUES

L'étude histologique des tissus a été faite avec un soin particulier ; les coupes pratiquées, soit à la main, soit au microtome Lelong, après fixage à l'alcool ou dans la solution de Regaud, et inclusion à la paraffine, ont été colorées par des réactifs suivants :

1^o *Carmin et vert d'iode.*

1. Colorer une heure au carmin aluné de Grenachen et laver à l'eau.

2^o Colorer pendant quelques secondes dans une solution de vert d'iode dilué par l'eau distillée.

Nous avons également employé le mélange carmin-vert d'iode indiqué par Mirande.

Le carmin colore les éléments lignifiés en vert et les tissus cellulotiques en rouge.

2° *Bleu de méthylène et rouge de ruthénium.*

1. Colorer pendant 3 à 10 minutes dans le bleu de méthylène aluné, bleu de méthylène 1 gr. ; alun 10 gr. ; eau 100 cc. ; laver à l'eau ensuite.

2. Colorer 3 à 10 minutes dans la solution aqueuse de rouge de ruthénium.

Le liège se colore en vert, le sclérenchyme en violet, le bois en bleu. Les parenchymes prennent une forte coloration rouge s'ils sont riches en composés pectiques.

3° *Méthode de Bugnon.*

Cette méthode a l'avantage de produire une triple coloration :

I. Solution Encre-Vert Lumière-Soudan III.

On fait une solution saturée de vert lumière et de Soudan III dans l'alcool à 70° puis on y ajoute une certaine quantité d'encre Antoine après l'avoir filtrée.

Les coupes sont plongées pendant quelque temps dans le colorant puis lavées à grande eau. Les membranes lignifiées se teignent en vert, les membranes cutinisées et subérisées en rouge orangé et les membranes pecto-cellulosiques en violet.

4° *Acide iodhydrique.*

On colore des coupes déshydratées par l'alcool avec quelques gouttes d'acide iodhydrique méthode de Mangin puis on enlève l'excès de colorant avec du papier Joseph et on monte les coupes ainsi colorées dans la glycérine aqueuse saturée de chlorate.

La cellulose est colorée en violet.

5° *Acide phloroglucine chlorhydrique.*

On place les coupes pendant un certain temps dans une

solution alcoolique de phloroglucine, puis on ajoute quelques gouttes d'acide chlorhydrique dilué.

Les éléments lignifiés se colorent en rouge.

6° *Fuchsine ammoniacale.*

On dissout une petite quantité de fuchsine dans l'alcool à 95°, puis on y ajoute de l'ammoniaque jusqu'à décoloration ou plutôt jusqu'à ce qu'on ait obtenu une teinte jaune fauve ; on plonge les coupes dans le colorant pendant quelques secondes, puis on les met dans l'eau pure. Les membranes lignifiées se colorent en rouge, la subérine et la cutine se colorent également.

7° *Réaction de Maule.*

On laisse les coupes en contact pendant 5 minutes avec du permanganate de K, à 1 %, puis on lave à l'eau et on décolore par l'acide chlorhydrique étendu ; après ces opérations, on lave de nouveau à l'eau et on traite par l'ammoniaque, alors la lignine seule se colore en rouge.

8° *Réactif de Schweizer.*

On met de la tournure de cuivre dans l'ammoniaque en exposant à l'air pour obtenir une solution d'oxyde de cuivre ammoniacal qui dissout la cellulose, mais non la callose.

CHAPITRE III

CYTOLOGIE

Rappelons que les travaux effectués dans ces quinze dernières années ont apporté des données tout à fait nouvelles sur la structure de la cellule, dont on ne connaissait *bien* jusqu'alors que le noyau. Ces travaux ont démontré qu'il existe dans toute cellule dans le cytoplasme, qui paraît être à l'état de gel colloïdal et présente sur le vivant un aspect homogène, de nombreux organites très petits qui ont reçu le nom de mitochondries ou chondriosomes. Ce sont des éléments en forme de grains (mitochondries), de bâtonnets ou de filaments onduleux (chondriocontes) qui peuvent passer de l'une à l'autre de ces formes. Ces éléments qui ressemblent à des bactéries ne paraissent se former que par division de mitochondries préexistantes. L'ensemble des mitochondries d'une cellule constitue ce qu'on appelle son chondriome. Les mitochondries sont constituées par des lipoprotéides, et montrent tout un ensemble de caractères histochimiques caractéristiques. Leur teneur en lipoides auxquelles les mitochondries doivent leur propriété de se colorer par certaines méthodes explique que l'on ne les ait découvertes que si tardivement : en effet, toutes les techniques de fixation employées renfermaient de l'alcool ou de l'acide acétique qui détruisent les lipoides. Seules les méthodes dites mitochondriales à l'aide de mélanges sans alcool, ni acide acétique, mais renfermant du bichromate de potassium

qui insolubilise ces lipoides permettent de les conserver. Les mitochondries ont pu être retrouvées sur le vivant grâce à une réfringence un peu plus accusée que celle du cytoplasme. Elles apparaissent comme des éléments très fragiles qui s'altèrent très rapidement sous diverses actions physiques ou chimiques en se transformant en grosses vésicules à paroi réfringente et qui renferment à leur intérieur un liquide aqueux. On a attribué aux mitochondries un rôle dans la formation de divers produits de l'élaboration de la cellule, mais ce rôle est encore très discuté.

Les recherches de cytologie végétale ont démontré que dans les végétaux chlorophylliens, il existe deux lignées de mitochondries présentant les mêmes formes et les mêmes caractères histochimiques, mais qui diffèrent par leurs fonctions : les unes correspondant aux mitochondries que l'on trouve dans les cellules animales et dans le thalle des Champignons persistent sous leur formes initiales pendant tout le développement et ont un rôle qui n'a pas encore été précisé ; les autres sont assimilables aux plastes ou leucites depuis longtemps décrits, mais dont l'origine et les formes étaient mal connues puisque aucune méthode ne permettait de les colorer après fixation et que l'observation vitale permettait seule de les observer, mais d'une manière incomplète. Cette dernière lignée de mitochondries élabore dans les tissus incolores (racines) des grains d'amidon et correspond aux leucoplastes de W. Schimper, tandis que dans les tissus verts, elle se charge de chlorophylle et se transforme par accroissement en gros chloroplastes. Les cellules des végétaux chlorophylliens se distinguent donc des cellules animales par le fait qu'elles possèdent une catégorie supplémentaire de mitochondries qui sert de substratum à la chlorophylle (Guilliermond, Emberger, Mangenot, etc.). Cette

dernière catégorie de mitochondries peut être désignée sous le nom de plastes, tandis que l'on peut réserver aux autres, le terme de mitochondries proprement dites. Il est évident qu'il doit exister une différence dans la constitution chimique de ces deux catégories d'éléments, mais cette différence est très légère et ne se révèle pas à notre analyse microchimique ; peut-être est-elle de nature minérale.

Les recherches récentes de cytologie ont montré qu'en dehors des mitochondries, il paraît exister dans toutes les cellules, des vacuoles dont l'ensemble constitue ce qu'on appelle le vacuome (A. Dangeard, Guilliermond). Ces vacuoles renferment toujours des substances colloïdales de nature variée qui ont le pouvoir de fixer la plupart des colorants vitaux, entre autres le rouge neutre, ce qui permet de les étudier facilement sur le vivant. Dans les cellules embryonnaires, le vacuome apparaît sous formes de nombreux et minuscules éléments semi-fluides constitués par une solution colloïdale très dense : ceux-ci ont des formes de grains et surtout de filaments contournés souvent anastomosés en réseaux qui rappellent les mitochondries. Ces éléments se colorent uniformément et d'une manière intense par les colorants vitaux. Pendant la différenciation cellulaire, ils se gonflent en absorbant de l'eau et se transforment en petites vacuoles liquides et rondes renfermant des colloïdes à l'état de solution très diluée et qui peu à peu se fusionnent pour ne plus constituer qu'une seule grosse vacuole. Les colorants vitaux ne colorent plus les vacuoles liquides ou ne leur donne qu'une teinte diffuse, mais précipitent les colloïdes qu'ils renferment sous forme de corpuscules vivement colorés et animés de mouvements browniens.

Les recherches de Guilliermond et de P. Dangeard ont démontré que les grains d'aleurone résultent de la coa-

gulation du contenu colloïdal des vacuoles pendant la désydratation consécutive à la maturation de la graine et qu'à la germination, par nouvelle hydratation, ils se transforment de nouveau en vacuoles liquides.

Les travaux de ces auteurs ont montré que les formes filamenteuses et réticulaires du vacuome sont dues à leur état semi-fluide. C'est ainsi que dans la formation des grains d'aleurone, les vacuoles en perdant leur eau prennent souvent l'aspect filamenteux et réticulaire, puis se transforment en se solidifiant en grains d'aleurone solides et arrondis. Ceux-ci, à la germination, reprennent souvent au début de leur hydratation, la forme filamenteuse, avant de se transformer en vacuoles liquides, rondes.

Il semble donc exister une certaine réversibilité entre les deux aspects du vacuome : 1° nombreux et minuscules filaments souvent anastomosés en réseau, 2° petit nombre de grosses vacuoles liquides. En plasmolysant les cellules épidermiques de la fleur de Tulipe dans des variétés où la vacuole est riche en anthocyane, Guilliermond a pu obtenir le morcellement de cette vacuole en de nombreux petits éléments filamenteux ou réticulaires semi-fluides, consécutifs à la déshydratation.

Les formes filamenteuses et réticulaires semi-fluides du vacuome sont faciles à distinguer du chondriome par le fait qu'elles prennent la plupart des colorants vitaux, alors que les mitochondries ne se colorent vitalelement que très difficilement et seulement par des colorants spéciaux (Vert Janus et violet Dahlia) qui ne colorent pas le vacuome. De plus, le vacuome ne se colore généralement pas par les techniques mitochondriales. Il semble que cette similitude de forme entre le vacuome et le chondriome est due à une consistance semi-fluide analogue des deux catégories d'éléments.

Les substances colloïdales du vacuome sont encore mal

connues et semblent très diverses : protéine, métachromatine, composés phénoliques qui n'ont que la propriété commune de fixer les colorants vitaux.

D'après Guilliermond, les vacuoles naîtraient de la manière suivante : le cytoplasme posséderait la propriété d'élaborer des substances de réserve ou des produits de déchets qui se sépareraient des colloïdes cytoplasmiques sous forme de filaments non miscibles avec ces derniers. Par suite de leur fort pouvoir d'absorption pour l'eau, ces substances se transformeraient en vacuoles liquides capables, par suite de déshydratation, de reprendre la forme semi-fluide et filamenteuse.

Les travaux de Guilliermond ont démontré que les formations connues dans les cellules animales sous le nom d'appareil de Golgi et de canalicules de Holmgren correspondent à certaines phases d'un vacuome semblable à celui des cellules végétales. Le vacuome des cellules végétales s'imprègne en effet par les méthodes d'imprégnation argentiques et osmiques employées pour la différenciation de l'appareil de Golgi. Les résultats ont été ensuite confirmés dans les cellules animales par les recherches de Corti et de Parat et Painlevé.

On voit donc qu'il existe dans le cytoplasme deux systèmes constants : 1° le chondriome constitué dans les végétaux verts par deux lignées de mitochondries dont l'une correspond aux plastes ; 2° le vacuome correspondant aux appareils de Holmgren et de Golgi ; ce dernier paraît être une sorte de lieu d'accumulation de beaucoup de substances utiles (réserves) ou nuisibles (substances de rebut) secrétées par le cytoplasme.

En dehors de ces éléments, on observe dans presque toute cellule de petits grains d'aspect oléagineux se distinguant des mitochondries par leur plus forte réfringence, leurs dimensions très inégales et leur quantité très variable

ainsi que leur propriété de réduire l'acide osmique (microsomes des auteurs). Ce sont des granulations graisseuses ou lipoides qui ne se colorent pas par les méthodes mitochondriales. Il semble qu'elles résultent d'une séparation des lipoides du complexe lipo-protéique qui constitue le cytoplasme se produisant dans certaines conditions.

1^o Etude cytologique des bourgeons de tubercules.

A. — ETUDE VITALE.

Les coupes faites dans des bourgeons de tubercules de plantes atteintes et traités par les colorants vitaux (rouge neutre ou bleu de méthylène) montrent que les vacuoles prennent une vive coloration; à leur intérieur, on peut déceler la présence de précipités abondants et doués de mouvement brownien. Les coupes faites dans des plantes saines du même âge et dans la même région montrent que les vacuoles ne se colorent que très légèrement, les précipités produits par les colorants vitaux sont, pour ainsi dire, insignifiants.

B. — EXAMEN DES COUPES FIXÉES ET COLORÉES.

1. — Méthode de Regaud.

Les coupes faites dans des bourgeons de tubercules de plantes saines, fixées par le mélange de formol et de bichromate de potasse, puis colorées par l'hématoxyline ferrique (méthode de Regaud) nous ont montré que la structure du cytoplasme était la suivante :

Dans les régions les plus jeunes d'une plante saine (fig. 1 et 2, planche IV), on observe un cytoplasme grisâtre contenant un noyau central coloré d'une manière intense, un grand nombre de petits filaments onduleux (chondriocotes), et des mitochondries granuleuses. Tous ces éléments du chondriome se colorent fortement et de la même manière en noir foncé. Les vacuoles extrêmement petites restent incolores.

A un stade plus avancé (fig. 3 et 4, pl. IV), les vacuoles plus grandes se montrent dans le cytoplasme sous forme de cavités qui restent incolores; les chondriocotes déjà verts, forment, sur leur trajet, des renflements qui prennent l'aspect de vésicules (comme on peut s'en rendre compte par l'examen vital) celles-ci sont déterminées par la formation, au sein des chondriocotes, d'un petit grain d'amidon que l'hématoxyline laisse incolore. En traitant par le réactif iodo-ioduré une préparation fixée et colorée par la méthode de Regaud, on obtient la coloration brune caractéristique du grain d'amidon, dans l'intérieur du chondriocote qui reste teint en noir. A un stade ultérieur, les vacuoles sont fortement agrandies et séparées seulement par de fines brides de cytoplasme. Les grains d'amidon ont beaucoup grossi; ils apparaissent sous forme de gros grains entourés par une mince écorce mitochondriale, reste du chondriocote qui les avait formés : ils constituent alors des chloroplastes. Quant aux mitochondries granuleuses, elles ont une tendance à s'allonger en bâtonnets et en chondriontes ou restent à l'état de grains (fig. 4 à 6, pl. IV).

Quand l'accroissement de la cellule est achevé, les vacuoles fusionnées constituent une grande cavité au sein du cytoplasme (fig. 7, pl. IV). Les vacuoles incolores au début montrent, dès le stade où les grains d'amidon commencent à grossir, une substance contractée dans leur intérieur et qui prend une teinte jaune caractéristique des

composés phénoliques ; lorsque la régression à l'alun est insuffisante, ces composés phénoliques apparaissent colorés en noir par l'hématoxiline ferrique (fig. 5 à 7, pl. IV).

L'étude des plantes malades effectuée dans les mêmes conditions que précédemment, montre qu'au début, l'organisation générale de la cellule n'est que très faiblement modifiée ; cependant déjà dans les cellules très jeunes, on aperçoit, après coloration par la méthode de Regaud, des granulations de composés phénoliques teintés en jaune ou en noir (fig. 3 *bis* et 4 *bis*, pl. IV).

Avec l'âge, les vacuoles augmentent de dimension, leur contenu devient de plus en plus abondant et se colore d'une manière plus intense. Ce contenu est formé de très nombreux corpuscules qui prennent des colorations brune, jaune, ou noire ; on doit les considérer, d'après ces colorations, comme des tannoïdes (fig. 5 *bis* et 6 *bis*, pl. IV et cellule 1 de fig. 3, pl. VII).

Ce cytoplasme des cellules avancées en âge se réduit énormément et il n'apparaît plus que sous forme d'une mince couche accolée à la paroi, mais contenant encore des mitochondries. La cavité des cellules est pour ainsi dire bourrée de tanin et de substances protéiques.

Les grains d'amidon acquièrent souvent des dimensions énormes (fig. 7 *bis*, pl. IV, et cellule 2 de fig. 3, pl. VII).

Il n'est pas rare de voir des grains dont les dimensions moyennes sont $13,50 \times 13$ microns, alors que dans les plantes saines les grains d'amidon ne dépassent guère $6,50 \times 6,50$ microns.

Le fixateur de Meves permet de déceler aisément la présence des matières grasses ; par suite de l'oxydation produite par l'acide osmique les substances grasses du cytoplasme prennent une coloration noire ; on reconnaît aussi par comparaison que les corps gras sont beaucoup plus abondants dans les plantes malades que dans les plantes

saines. Les tanoïdes des vacuoles sont également colorés en noir par le fixateur.

Lorsqu'on fait usage du colorant de Küll après le fixateur de Meves, certains précipités vacuolaires, le noyau et les mitochondries prennent une belle teinte rouge, les grains d'amidon se colorant en bleu; les graisses et le tanin offrent une teinte brune ou noire.

En résumé, les bourgeons issus des tubercules des plantes atteintes de la maladie de l'enroulement renferment dans le système vacuolaire de leurs cellules une proportion absolument anormale de substances tanoïques.

Les matières grasses du cytoplasma sont toujours en plus grande quantité que dans les plantes saines. Enfin les grains d'amidon prennent des dimensions parfois exagérées.

II. — Etude cytologique des tiges.

A. — ETUDE VITALE.

Dans la tige des plantes saines, les vacuoles ne se colorent que faiblement en présence du rouge neutre et, de même que dans les bourgeons, ne renferment qu'une très petite quantité de précipités.

Les tiges de même âge des plantes malades depuis plusieurs générations, offrent d'intéressantes modifications dans le système vacuolaire des cellules non encore atteintes de nécrose. La coloration que prennent leurs vacuoles est d'un rouge intense et les précipités qui se forment à leur intérieur sont toujours plus abondants que dans les cellules semblables des plantes saines; bien plus, il semble que ces précipités augmentent à mesure que progresse

la maladie et bien que les cellules en question soient indemnes.

Une cellule qui commence à se nécroser, perd d'abord la turgescence comme l'a constaté Foëx. Elle présente un cytoplasme très dense au sein duquel la vacuole n'est plus réellement reconnaissable; colorée vitalement par le rouge neutre, une telle cellule retient presque tout entière le colorant; c'est à peine si, dans certains cas, quelques précipités vacuolaires se teignent avec plus d'intensité que les autres parties de la cellule; l'ensemble du protoplasme se colore, ce qui semble indiquer que la cellule est morte; ces phénomènes vont en s'accroissant et le contenu cellulaire tout entier se trouve bientôt réduit à l'état d'une masse dense qui se colore d'une manière très intense par le rouge neutre.

B. — COUPES FIXÉES ET COLORÉES.

1^o *Méthode de Regaud.*

Quand on pratique des coupes épaisses (1) dans un fragment de tige adulte fixé par la méthode de Regaud, on voit que chez les plantes malades chaque cellule contient un abondant précipité de tanin. Ce précipité, d'une belle coloration jaune, est composé d'une accumulation de globules, ou bien revêt un aspect confusément granuleux. C'est particulièrement dans les cellules voisines des foyers nécrotiques que le tanin précipité se montre en plus grande quantité (fig. 1).

Chez les plantes saines, la méthode de Regaud montre

1. Il est nécessaire que les coupes soient épaisses : dans les coupes minces, les cellules déchirées laissent échapper les précipités de tanin qu'elles renferment.

que les précipités de substances tanoïdes sont excessivement faibles (fig. 2).

Lorsqu'on traite les coupes fixées au moyen de la méthode de Regaud par des colorants tels que l'héματοxyline ferrique après mordantage par l'alun de fer, on constate que les cellules les plus éloignées des foyers



FIG. 1 et 2.

Fig. 1. — Coupe épaisse pratiquée dans le liber d'une tige âgée de Kerrswhite enroulée, fixée par la méthode de Regaud sans coloration; le tanin se montre sous forme de globules jaunes généralement groupés.

Dans la fig. 2 nous avons représenté une coupe faite dans une tige âgée de Kerrswhite saine pour montrer que le tanin y est en quantité infime.

nécrotiques ne semblent pas modifiées dans leur forme, mais leur contenu paraît avoir subi certaines transformations : le cytoplasma, très abondant, renferme un noyau volumineux autour duquel sont groupés des chloroplastes remplis de nombreux grains d'amidon ; il contient, en outre, quelques mitochondries.

Les cellules qui entourent le foyer nécrotique sont dilatées ; le noyau déformé vient souvent s'appliquer contre la membrane (2. Fig. 5, pl. III).

La cellule ou le groupe de cellule (fig. 1, pl. I et pl. II)

en voie de nécrose présentent d'abord un cytoplasme qui retient peu les colorants et dont l'aspect n'est pas très différent de celui d'une cellule saine ; peu à peu cette masse protoplasmique devient de plus en plus avide de colorants ; les plastes, les mitochondries et souvent même les noyaux, disparaissent successivement. Finalement la cellule nécrosée ne contient plus qu'une masse informe, très avide de colorants, dans laquelle on aperçoit parfois encore un noyau dégénéré plongé dans une substance brunâtre plus ou moins granuleuse (1. Fig. 5, pl. III).

Les cellules nécrosées, écrasées par suite de la compression exercée sur elles par les cellules voisines, se réduisent peu à peu, et finalement on ne voit plus qu'une matière noire localisée dans un espace qui offre l'aspect d'un méat (2. Fig 1, pl. III et VII, pl. 1). C'est pourquoi certains auteurs ont confondu ce faux méat avec le gonflement qui se manifeste dans la membrane des cellules voisines du foyer nécrotique, gonflement qui, d'après eux, est le début de la nécrose (v. p. 10 et 57).

Après avoir appliqué la méthode de Regaud, nous avons traité les coupes par une solution d'iodure de potassium-iodée forte ; cela nous a permis de reconnaître que les grains d'amidon se présentent, au début, avec leur volume et leur forme normaux ; puis petit à petit, ils se déforment et leurs dimensions s'atténuent à tel point qu'ils finissent par être réduits à des granulations de taille absolument exigüe. On peut admettre que ces grains sont digérés à mesure que le contenu cellulaire s'altère ; des grains persistent cependant en très petite quantité dans les cellules complètement nécrosées et offrant l'aspect d'un méat ; preuve nouvelle que ce faux méat n'est pas un simple gonflement des membranes cellulaires, mais le résidu nécrosé d'une cellule ou de plusieurs cellules (1. Fig. 1., pl. III).

II. — *Méthode de Meves-Küll.*

Cette méthode ne permet aucune constatation essentiellement nouvelle.

Le tanin qui se trouve dans les diverses cellules, apparaît ici sous forme d'un précipité noir. Le contenu des cellules nécrosées se colore en rouge par la fuchsine acide (méthode de Küll).

III. — *Autres méthodes.*

Quand on fixe par les méthodes de Schaudinn ou de Bouin et que l'on colore par l'hématoxyline ferrique, on constate, dans les cellules des plantes malades, la présence de nombreuses granulations sans doute de nature protéique. Ces granulations sont en petite quantité chez les plantes saines.

Mais ces méthodes sont surtout favorables à l'étude des noyaux. Dans les plantes malades, les noyaux se montrent, à l'aide de ces méthodes, sous forme de corps volumineux allongés en fuseaux.

Les coupes fixées dans l'alcool montrent que les cellules nécrosées sont remplies d'une matière incolore, ou colorée en jaune ou brun orange, englobant un noyau dégénéré. Cette substance peut être homogène ou bien se présenter sous forme de globules ou de granulations qui remplissent plus ou moins la cavité cellulaire (fig. 3, pl. III).

Les membranes des cellules nécrosées sont également incolores ou, au contraire, présentent une teinte jaune.

Enfin, on observe dans certains cas que le contenu des cellules non nécrosées est incolore, tandis que les mem-

branes sont partiellement colorées en jaunâtre. Artschwager et Foëx avaient déjà constaté ce fait.

Il importe, dès maintenant de signaler une des conclusions de ce travail : Artschwager, Foëx, Ducomet et Brehmer ont admis que la nécrose commence au niveau de la membrane pour s'étendre ensuite au protoplasma. Mais ces auteurs ont poursuivi des recherches d'ordre exclusivement anatomique et n'ont pas suivi les altérations du contenu cellulaire. Nos recherches poursuivies au moyen des techniques cytologiques modernes nous permettent précisément de compléter et de rectifier ces résultats. Certes, dans certains cas que nous venons de signaler, la membrane cellulaire jaunit avant toute altération cytoplasmique ; mais ces cas sont relativement rares, et nous ne savons qu'elle sera la destinée des cellules dont les membranes sont ainsi colorées. Dans tous les cas dans lesquels nous avons suivi avec précision les divers degrés de la nécrose, nous avons constaté que les premières altérations se manifestent au niveau du cytoplasma, la membrane paraissant encore intacte. Secondairement, à mesure que s'accroissent les transformations cytoplasmiques, la membrane manifeste à son tour des signes d'altération. Nous reviendrons, d'ailleurs sur ce point dans le chapitre consacré à l'anatomie comparée des plantes saines et malades.

III. — Etude cytologique des tubercules.

A. — ETUDE VITALE.

Les coupes fraîches de tubercules ne permettent pas de reconnaître s'il y a une modification de forme dans les grains d'amidon des plantes malades.

Le liège et les cellules parenchymateuses immédiatement sous-jacentes des plantes malades possèdent un contenu formé par des amas de substances brunes ou jaunes (fig. 4, pl. VII) ; rien de pareil ne s'observe chez les plantes saines dont les mêmes cellules ne contiennent que quelques granulations éparses.

B. — COUPES FIXÉES ET COLORÉES.

Quand on emploie la méthode de Regaud, les grains d'amidon se colorent fréquemment en noir aussi bien chez

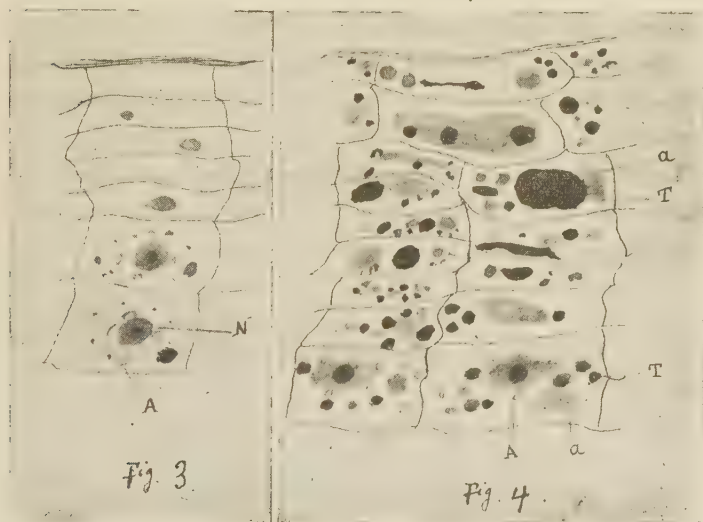


FIG. 3 et 4.

Fig. 3. — Liège et périderme d'un tubercule de plante saine traité par la méthode de Regaud. Les cellules de ce périderme sont pauvres en composés tannoïques.

Fig. 4. — Périderme d'un tubercule de plante malade traité par la méthode de Regaud ou Meves-Küll.

Les cellules du périderme contiennent du tanin (*T*) en grosses masses et des matières albuminoïdes (*a*) plus ou moins condensées. Les cellules renferment quelques petits grains d'amidon (*A*) autour de leur noyau (*N*).

les plantes saines que chez les plantes malades. Les substances brunes ou jaunes contenues dans le liège des plantes malades sont à l'état de corpuscules irréguliers, les uns colorés en noir, les autres en jaune (fig. 4). On n'observe que de très petits et rares corpuscules tannoïques dans ces mêmes cellules des plantes saines (fig. 3).

Par la méthode de Meves-Küll, les grains d'amidon se colorent rapidement en bleu, tant dans les plantes malades que dans les plantes saines ; dans les cellules du tissu subéreux, on observe des particules colorées en noir et en rouge ; ces dernières représentent sans doute, des précipités protéïques, les grains noirs étant constitués de tannoïdes osmioréducteurs (fig. 5, pl. VII).

Ces réactions montrent que le contenu des cellules subéreuses est formé par une association de tannoïdes et de protéïdes.

Le suber, comme d'ailleurs toutes les cellules parenchymateuses, contiennent des cristalloïdes cubiques toujours plus abondants chez les plantes malades.

IV. Etude cytologique des feuilles

A. — ETUDE VITALE

Les coupes faites dans une jeune feuille de plante saine montrent que celles-ci sont très riches en chloroplastes d'un beau vert. Le contenu des vacuoles prend, en présence du rouge neutre, une légère teinte rougeâtre et paraît très pauvre en précipités. Les vacuoles dans les cellules palissadiques sont étroites et allongées.

Dans les feuilles adultes, la composition du contenu vacuolaire est sensiblement la même que dans les jeunes feuilles. L'amidon se montre toujours en petite quantité

et reste sous forme de petits grains (fig. 6 et 1., fig. 1, pl. VII).

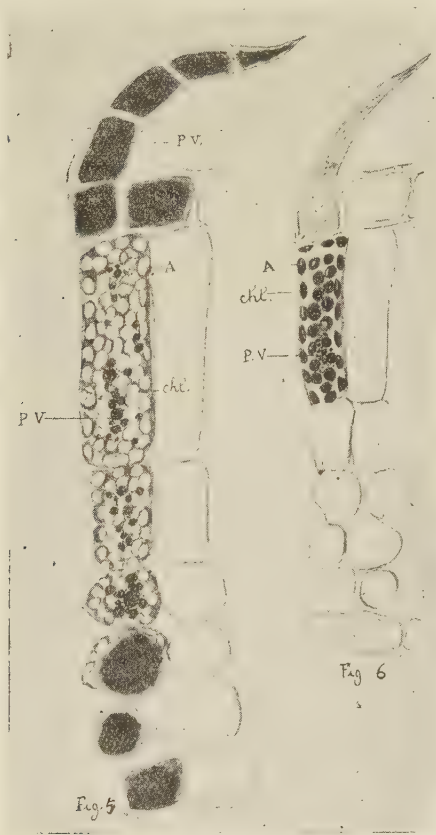


FIG. 5 et 6.

Fig. 5. — Coupe fraîche de feuille enroulée colorée par le rouge neutre montrant un précipité vacuolaire (P. V.) abondant dans les poils, les cellules épidermiques et le tissu parenchymateux.

(A) amidon, (chl.) chloroplastes.

Fig. 6. — Coupe fraîche de feuille saine colorée par le rouge neutre montrant que les précipités vacuolaires n'existent que dans les cellules de parenchyme et en très petite quantité; ils font presque entièrement défaut dans les poils et les cellules épidermiques.

(A) amidon, (chl.) chloroplastes.

Lorsqu'on fait des coupes dans de jeunes feuilles ne paraissant pas présenter extérieurement les caractères de la maladie, mais poussées sur des tiges nées de tubercules formés par des plantes malades, on observe les modifications suivantes : Les cellules du parenchyme foliaire ont de plus grandes dimensions que chez les plantes absolument saines, leurs chloroplastes peu nombreux ont une teinte vert-jaunâtre et ne contiennent que 1 à 2 grains d'amidon de petite taille, les vacuoles, plus grandes, se colorent vivement par le rouge neutre et leur contenu est toujours très abondant.

Dans les feuilles un peu plus âgées que les précédentes, la proportion d'amidon augmente considérablement et les premiers symptômes de l'enroulement commencent à se manifester. A ce stade, les chloroplastes se sont singulièrement agrandis en même temps que l'intensité de leur pigmentation s'est affaiblie, des globules graisseux ont apparu à leur intérieur et les grains d'amidon qu'ils conservent ont augmenté de nombre et de dimension (2 à 7. Fig. 1, pl. VII).

Quand les feuilles ont atteint leur complet développement et que l'enroulement est définitivement effectué, les précipités vacuolaires atteignent leur maximum d'importance (fig. 5). Les cellules sont en quelque sorte bourrées de grains d'amidon composés inclus dans des chloroplastes réduits à une fine pellicule qui les entoure (9 à 11. Fig. 1, pl. VII),

Ces chloroplastes sont particulièrement fragiles et comme l'a montré Beauverie, ils s'altèrent beaucoup plus facilement dans les milieux hypotoniques que les chloroplastes des plantes saines. Ils se gonflent, se transforment en une vésicule renfermant un liquide hyalin et au milieu duquel se trouvent les grains d'amidon. Ils peuvent même éclater.

Le cytoplasme des tissus parenchymateux et même celui des poils, renferme, aussi bien chez les plantes saines que chez les plantes malades, des cristalloïdes de nature protéique remarquables par leur réfringence. Ces cristalloïdes nous ont paru être plus nombreux dans les feuilles enroulées que dans les feuilles normales.

Les feuilles de Pomme de terre sont assez riches en cristaux d'oxalate de calcium qui se trouvent particulièrement dans le tissu lacuneux ; ces cristaux dans les cellules des feuilles très malades sont souvent très petits.

Coupes fixées et colorées

A. MÉTHODE MITOCHONDRIALE (REGAUD)

Les coupes faites dans de très jeunes feuilles et colorées après fixation montrent que, dans la plante saine, le cytoplasme renferme un noyau d'assez petite taille, des vacuoles pauvres en composés phénoliques, des mitochondries granuleuses et des chondriocontes (fig. 2, pl. V). Dans les feuilles un peu plus âgées, les chondriontes forment sur leur trajet de petits renflements ; ceux-ci se transforment en vésicules occupées par un petit grain d'amidon (fig 3, pl. V) en conservant quelque temps une sorte de queue, reste du chondrionte. A ce stade, ils sont déjà verts. Ce sont donc de petits chloroplastes (fig. 4, pl. V). Ces chloroplastes grossissent peu à peu et prennent l'aspect de gros corpuscules ovoïdes qui contiennent un petit grain d'amidon. Ils sont disséminés dans tout le cytoplasme. Les mitochondries granuleuses subsistent sans se modifier (fig. 4 *bis*, pl. VI).

Quand on étudie une feuille de plante malade, on constate d'abord que la taille de toutes les cellules est très ac-

crue. Nous avons procédé à des mensurations aussi précises que possible au moyen de l'oculaire micrométrique à tambour de Leitz et nous avons obtenu les résultats suivants :

TABEAU

<i>Feuille de Triomphe enroulée</i>	<i>Feuille de Triomphe Saine:</i>
Cellules palissadiques se trouvant immédiatement sous l'épiderme :	Cellules palissadiques se trouvant immédiatement sous l'épiderme :
125,500 × 20 400	72,000 × 13,500
130,000 × 25,500	73,800 × 13,500
124,400 × 26,000	75,600 × 16,600
121,500 × 25,200	72,000 × 13,500
130,500 × 24,300	81,000 × 13,500
130,500 × 22,500	85,500 × 18,000
128,250 × 27,000	85,500 × 13,500
117,000 × 18,000	90,000 × 18,000
126,000 × 27,000	81,000 × 13,500
121,500 × 27,000	76,500 × 13,500
1.255,150 × 2.412,900 : 10 =	791,900 × 147,100 : 10 =
125,515 × 241,290	79,190 × 14,710
Moyenne : 120 × 24	Moyenne : 80 × 14
Cellules lacuneuses se trou- vant immédiatement sous les tis- sus palissadiques :	Cellules lacuneuses se trou- vant immédiatement sous les tissus palissadiques :
40,500 × 27,000	29,250 × 18,000
31,500 × 30,000	22,500 × 22,500
45,000 × 31,500	31,500 × 22,500
31,500 × 48,500	27,000 × 24,750
31,500 × 30,250	27,000 × 22,500
28,000 × 27,000	18,000 × 27,000
31,500 × 31,500	22,500 × 31,500
240,500 × 225,750 : 7 =	177,750 × 168,750 : 7 =
34,35 × 32,25	25,39 × 24,10
Moyenne : 34 × 32	Moyenne : 25 × 24

Le tableau montre que les dimensions de toutes les cellules sont amplifiées. Ainsi, dans les feuilles de Triomphe, les dimensions moyennes des cellules palissadiques, sont, chez les plantes malades 120 μ sur 24 μ , tandis que chez les plantes saines elles n'ont que 80 μ sur 14 μ ; les cellules du tissu lacuneux chez les plantes malades

ont $34\ \mu$ sur $32\ \mu$ et seulement $25\ \mu$ sur $24\ \mu$ chez les plantes saines.

Corrélativement, le noyau est toujours plus volumineux que dans les plantes saines ; les vacuoles sont aussi de dimensions beaucoup plus élevées ; en outre, leur contenu présente des modifications très remarquables dès le début de la vie de la cellule (fig. 2 *bis*, 3 *bis*, 4 *bis*, pl. V).

Ces modifications sont relatives à la teneur en tannoïdes et en protéïdes. Cette teneur est variable suivant qu'on s'adresse à une plante qui descend directement d'une plante malade ou à une plante issue d'une lignée de plantes malades. Les phénomènes d'ordre pathologique augmentent en effet d'intensité de génération en génération. Chez les plantes de première génération, les composés tannoïdes ne se rencontrent au début que dans les vacuoles des cellules épidermiques, ils n'apparaissent dans les vacuoles des cellules parenchymateuses qu'à un âge assez avancé.

Les feuilles des plantes de deuxième, troisième et quatrième génération, montrent une extraordinaire richesse en composés tannoïdes ; dès le plus jeune âge, ces composés occupent non seulement les cellules épidermiques, mais également toutes les cellules parenchymateuses.

Dans les cellules épidermiques les substances tannoïdes sont agglomérées en masse compacte qui remplissent complètement la cavité et dont la coloration peut être noire ou jaune (fig. 1, pl. VI).

Chez les plantes de première et deuxième génération, le contenu vacuolaire des cellules parenchymateuses se présente sous forme de globules ou de granules, tandis que chez les plantes atteintes depuis quatre ou cinq générations, il a le même aspect que celui des cellules épidermiques : on voit comme chez celle-ci de grosses masses colorées en noir ou en jaune, mais en outre, on distingue

à leur intérieur de petites inclusions liquides (fig. 6, pl. VII).

La proportion de substances vacuolaires augmente par conséquent avec l'intensité de la maladie ; elle est en relation avec les modifications que prennent les cellules.

Les cellules renferment une seule vacuole énorme occupant presque toute la cellule. Cette accumulation de substance vacuaire est accompagnée d'autres phénomènes ; le noyau augmente de volume et de chromaticité, le plus souvent il se colore uniformément en noir, parfois il prend un aspect piriforme.

Les chloroplastes situés dans le cytoplasme pariétal sont occupés par de gros grains d'amidon et réduits à une mince écorce qui les entoure (fig. 1, pl. VI).

Les grains d'amidon contenus dans les chloroplastes des feuilles saines de Triumph ont une dimension moyenne de $1\ \mu$ sur $1\ \mu$ (1. Fig. 5, pl. V), tandis que ceux des feuilles enroulées de la même plante sont gonflés et atteignent parfois $4,5\ \mu$ sur $4,5\ \mu$ (2 à 7. Fig. 5, pl. V).

La méthode de Meves-Küll montre que la proportion de matières grasses croît avec l'intensité de la maladie ; chez les plantes saines, on n'observe que quelques gouttelettes de matière grasse disséminées dans le cytoplasma, tandis que dans certaines plantes malades, le cytoplasma et les chloroplastes altérés sont envahis par la substance grasse (g. h. et g. g. Fig. 7, pl. VII).

Le tanin est précipité en noir, sous forme de globules ou de granulations qui s'observent très nettement aussi bien dans l'épiderme que dans les cellules du parenchyme ; la coloration de ces granules est plus faible que celle des matières grasses ce qui permet de les en distinguer (fig. 7, pl. VII).

Les chloroplastes ainsi que certains précipités vacuolaires se colorent en rouge ; l'amidon prend parfois une teinte bleue, mais le plus souvent, il reste incolore. Les

grasses et les précipités vacuolaires tannoïdes sont teints en brun ou en noir.

Dans les préparations obtenues après action du fixateur de Bouin, puis coloration par l'hématoxyline ferrique ou la fuchsine acide, le cytoplasme des cellules épidermiques se présente sous forme d'un coagulum spongieux renfermant d'assez nombreux grains sidérophiles paraissant correspondre aux cristalloïdes mis en évidence par la méthode de Schaudinn (v. page suivante). Dans les cellules parenchymateuses, on observe des vacuoles renfermant des précipités qui sont sans doute de nature protéique, car les composés tannoïdes, non fixés par le liquide de Bouin, ont disparu. Ces précipités ont des formes excessivement variées (filaments, réticulum, granulations, etc.) (fig. 2, pl. VI).

Dans les plantes saines, le corps protoplasmique des cellules parenchymateuses ou épidermiques apparaît nettement contracté, tandis qu'il ne l'est pas dans les mêmes cellules des plantes malades (fig. 2 *bis*, pl. VI).

Méthode de Schaudinn.

La méthode de Schaudinn permet de décélérer la présence, dans les cellules épidermiques ou parenchymateuses des feuilles des plantes malades, de petits cristalloïdes (P. c. Fig. 2, pl. VII).

Dans les cellules parenchymateuses, le contenu est plasmolysé dans les plantes saines, tandis qu'il n'apparaît pas contracté chez les plantes malades. Les gros cristalloïdes cubiques du cytoplasma se voient avec une grande netteté quand on se sert du réactif de Schaudinn.

CHAPITRE IV

ANATOMIE

I. — Structure de la tige d'une plante saine.

A. — TIGE JEUNE (base d'une pousse portant quatre feuilles).

L'épiderme de la tige de *Solanum Tuberosum* est composé d'une assise de cellules cubiques, il est doublé d'un exoderme collenchymateux dont les cellules affectent une forme tubulaire. On peut distinguer deux zones dans le parenchyme cortical.

1° Une zone externe formée de cellules assez petites dont les dimensions vont en croissant de la périphérie au centre.

2° Une zone interne constituée par de grandes cellules laissant entre elles peu de méats.

L'endoderme est composé de cellules tubulaires.

Le péricycle contient quelques fibres éparses.

Le liber externe renferme des îlots criblés isolés les uns des autres et formés, en moyenne, de 4 éléments ; le parenchyme qui les entoure est composé de cellules polygonales irrégulières.

Le liber interne offre la particularité de posséder des îlots criblés, volumineux ; quelques-uns ne renferment pas moins de vingt éléments. A l'encontre des îlots criblés du liber externe, les îlots du liber interne sont très rapprochés les uns des autres et parfois même se touchent. L'anneau ligneux, complet, est formé de files radiales de vaisseaux séparés de place en place par des files radiales

de cellules de parenchyme d'abord cellulosiques, qui se lignifient ensuite peu à peu.

Le parenchyme médullaire est composé de cellules polygonales assez grandes, séparées par de très petits méats triangulaires.

B. — TIGE AGÉE.

Dans les tiges en fin de végétation, les cellules épidermiques au lieu d'être cubiques sont aplaties tangentielle-ment par suite de l'accroissement en diamètre de l'organe.

La zone périphérique de l'écorce est entièrement transformée en collenchyme.

Les cellules de la zone interne ont leurs contours arrondis et présentent souvent des cloisons soit radiales, soit plus rarement tangentielles.

L'endoderme, déformé, cesse d'être reconnaissable.

Les fibres péricycliques sont fortement lignifiées ainsi que tous les tissus parenchymateux compris entre les vaisseaux.

Comme à l'ordinaire, les vaisseaux les premiers formés ont disparu, on n'en trouve plus que quelques débris à la partie interne de l'anneau ligneux.

Les ilots criblés du liber externe de même que ceux du liber interne contiennent de nombreux éléments en voie de dégénérescence.

La disparition des tubes criblés primitifs est particulièrement nette dans le liber interne. Cette dégénérescence normale des tubes criblés primitifs, nettement mise en évidence par les travaux de M. Chanveaud, a été désigné par Brehmer sous le nom de Nécrobiose et interprétée par Tiesenhausen, Schander et Esmarch comme un état nécrotique du liber.

Les cellules de la moelle acquièrent chez les plantes

âgées des dimensions considérables, elles conservent néanmoins la forme polygonale et les méats qu'elles laissent entre elles ne sont guère plus grands que dans les tiges jeunes.

II. Structure de la tige des plantes malades.

Les plantes malades éprouvent des modifications de structure qui portent surtout sur leurs éléments conducteurs et les tissus qui les environnent ; il y a, en particulier, une exagération de la destruction normale des tubes criblés.

La nécrose peut se manifester aussi bien dans les tiges souterraines que dans les tiges aériennes de la pomme de terre.

A la base de la tige, le nombre des cellules nécrosées du liber est sensiblement le même dans les nœuds que dans les entre nœuds tandis qu'au sommet chez les plantes adultes il y a manifestement plus de cellules nécrosées dans les régions nodales que dans les régions internodales ; c'est surtout au voisinage de l'insertion des feuilles que les cellules nécrosées se rencontrent en plus grand nombre ; les pétioles de toutes les feuilles malades ont presque toutes leurs cellules libériennes atteintes de nécrose.

Il est à remarquer que lorsqu'il y a absence accidentelle de feuilles, le nombre des cellules nécrosées de la tige est très restreint.

C'est la mauvaise interprétation de ces faits qui a conduit Quanjer à admettre que la nécrose du liber précédait l'enroulement, tandis que Oortwijn Botger et Ducomet, au contraire, ont soutenu que l'enroulement s'effectuait avant que les phénomènes se manifestent.

La présence de nombreuses cellules nécrosées au-des-

sous de l'insertion des feuilles ont de même paru à Artschwager être les premiers symptômes de la maladie.

Les membranes des cellules dans leurs parties voisines des tubes nécrosés présentent une épaisseur considérable : elles paraissent avoir subi, en ces points, une sorte de gonflement, elles ont fréquemment une teinte jaune ou brune.

Les membranes cellulaires des organes des plantes malades sont toujours plus épaisses que chez les plantes saines ; elles sont en général moins hydratées du moins en ce qui concerne les cellules libériennes.

Lorsqu'on emploie la méthode de Regaud, on constate que la membrane des cellules en voie de nécrose s'amincit peu à peu, puis se contracte à la suite de la dilamination des parois mitoyennes avec les cellules voisines (I. fig. 1, pl. I). Les espaces intercellulaires ne tardent pas à être envahis par les substances élaborées dans le foyer nécrotique et qui fument au travers des membranes amincies (I. fig. 1, pl. I).

C'est particulièrement dans les méats que se déversent ces produits de la nécrose, qui de là pénètrent dans les cellules voisines encore saines (II-III-IV-V. Fig. 1, pl. I).

Les cellules nécrosées vont sans cesse en se contractant, refoulées en quelque sorte par les cellules qui les entourent, et il arrive un moment où l'on peut à peine reconnaître la place qu'elles occupaient (IV-V. fig. I et VI VII, fig 1, pl. I et pl. II).

Les cellules voisines des éléments nécrosés, par suite de la destruction de ceux-ci, subissent une sorte d'étiement radial et acquièrent parfois des dimensions considérables. (pl. 1 et pl. 2).

Dans les parties en contact avec le foyer nécrotique, les cellules de bordure (pl. I, II et III) réagissent en épaississant considérablement leur membrane. Quelquefois on

n'observe aucun épaississement. Cela se produit lorsque l'état de nécrose n'est pas assez avancé pour que les substances nécrotiques diffusent dans les cellules voisines (fig. 1, pl. II).

Les parois épaisses des cellules ont généralement un aspect feuilleté déterminé par de minces fentes qui s'établissent dans la membrane (4. Fig. 2, pl. III).

Les substances nécrotiques se présentent sous forme de masses denses qui prennent aisément la coloration, elles sont complètement indépendantes des membranes cellulaires épaissies (S. N. IX-X. Fig. 1, pl. I).

Les coupes longitudinales sont particulièrement instructives, elles permettent de voir comment la maladie peut se propager de proche en proche.

En effet, ces coupes montrent que les cellules en voie de nécrose en se contractant inégalement prennent une forme un peu comparable à celle d'un entonnoir ou d'une pipette, c'est-à-dire qu'elles présentent inférieurement une portion effilée dans laquelle s'accumulent les produits nécrotiques (fig. 7).

Par cette partie effilée, les matières nécrotiques fuent soit dans les cellules voisines, soit dans les méats et vont disséminer le mal dans des régions parfois bien éloignées du foyer de contagion (fig. 8, 9, et 11).

Les plaques criblées des tubes libériens subissent de curieuses modifications. L'accumulation des matières nécrotiques a pour premier effet l'obturation des pores. La callose ne tarde pas à s'altérer, arrive à former une espèce de bouchon parfois volumineux qui repose sur la plaque criblée ; à son tour la plaque entre en dégénérescence, se fragmente et finit souvent par disparaître. A ce stade, les substances qui se trouvent dans le tube s'agglomèrent en une masse informe qui s'accrole à la paroi ou bien peut rester libre.

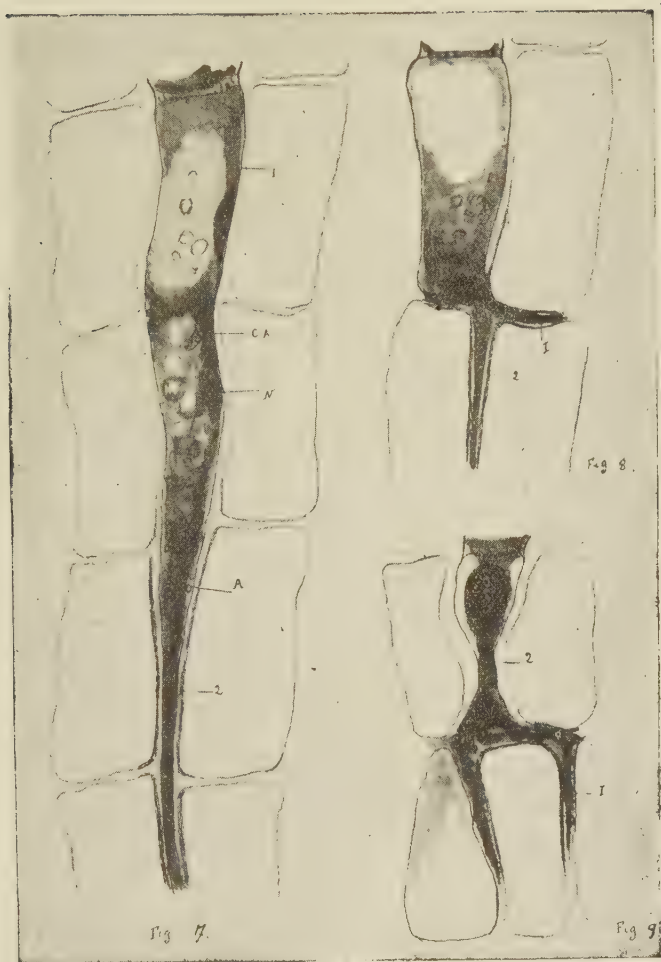


FIG. 7, 8 et 9.

Fig. 7. — Coupe longitudinale montrant une file de tubes criblés nécrosés; un d'eux est terminé en pointe.

1. — Portion de tube, figurée en section transversale dans la planche V et désignée par les chiffres I, II, et III.

2. — Portion de tube figurée en section transversale dans la planche I et désignée par les chiffres V et VI.

Fig. 8. — Coupe longitudinale d'un tube criblé.

La substance nécrotique est passée dans la couche moyenne des cellules libériennes voisines (1) et dans un méat (2). C'est l'état figuré en coupe transversale dans la planche I (fig. VIII, IX et X).

Fig. 9. — Coupe longitudinale d'un tube criblé irrégulièrement contracté, sa membrane est épaissie en 1 et non épaissie en 2.

L'état n° 2 est figuré en IV et V dans la coupe transversale de la planche II, fig. 1.

Dans certains cas, des groupes de cellules libériennes ne sont que faiblement nécrosés. Leur cytoplasma, au lieu d'être réuni en une grosse masse compacte, se présente en quelque sorte à l'état diffus, les membranes cellulo-

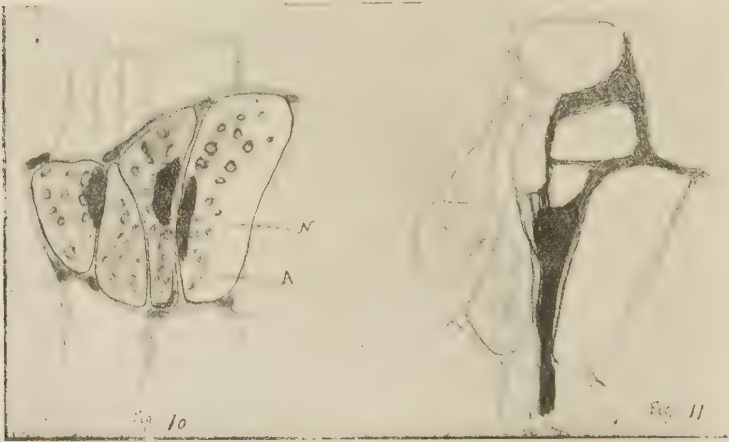


FIG. 10 et 11

Fig. 10. — Coupe tangentielle du liber, montrant un groupe de cellules en voie de nécrose.

Le contenu cellulaire commence à s'altérer.

Fig. 11. — Coupes longitudinales du liber montrant un groupe de cellules entièrement nécrosées.

siques sont peu contractées et leur épaissement est à peine indiqué. Il semble que l'altération de ces cellules est sans relation avec la disparition des tubes criblés et provient uniquement de la coagulation de leur contenu (fig. 10).

Parfois les membranes des cellules nécrosées présentent des déchirures lorsque la maladie est à son maximum de gravité.

III. — Microchimie de la nécrose du liber.

Les coupes fixées par l'alcool et colorées par diverses méthodes fournissent des résultats intéressants au point de vue des modifications chimiques des membranes chez les plantes atteintes de nécrose.

1. *Carmin-vert d'iode*. — Chez les plantes malades les membranes épaissies des cellules libériennes prennent quelquefois une coloration rouge intense, mais le plus souvent elles se colorent en bleu comme les tissus lignifiés ou subérifiés.

2. *Rouge de ruthenium*. — Le rouge de Ruthenium produit une coloration très intense dans tous les tissus nécrosés. La coloration atteint son maximum dans la partie moyenne de la membrane épaissie et va en s'atténuant en s'éloignant du foyer nécrotique : elle devient nulle dans la région de la membrane en contact avec le protoplasma de la cellule vivante voisine. Cette réaction montre que la plus grande partie de la membrane épaissie (fig. 2, pl. III) est de nature pectique, seule la région profonde (5. Fig. 2, pl. III) n'a pas subi de transformation. Dans les tissus non encore atteints de nécrose, la coloration est plus vive que chez les plantes saines.

3. *Méthode de Bugnon*. — Les feuillettes dont sont formées les membranes épaissies présentent une alternance de coloration bleue et violette. La coloration bleue semble fixée sur les feuillettes et ce sont les espaces compris entre les feuillettes qui se colorent en violet. On peut en conclure que les feuillettes sont lignifiées et séparées les uns des autres par des composés pectiques. Dans certains tissus nécrosés, la lignification ne se produit pas et la membrane en entier se colore en violet.

4. *Acide iodhydrique*. — Les tissus nécrosés en contact

avec l'acide iodhydrique se colorent en brun, ce qui indique qu'ils ne sont plus celluloseux.

5. *Acide sulfurique et iode*. — L'action de l'acide sulfurique associé à l'iode détermine une coloration jaune des tissus nécrosés, au lieu de donner la coloration bleue caractéristique de la cellulose.

6. *Phloroglucine et acide chlorhydrique*. — Les membranes des tissus nécrosés se colorent généralement en rouge en présence de la phloroglucine et de l'acide chlorhydrique, cependant certains tissus altérés sont réfractaires à la coloration.

7. *Fuschine ammoniacale*. — Les tissus nécrosés se colorent en rouge comme les tissus lignifiés normaux.

8. *Réaction de Maule*. — La coloration obtenue pour les tissus nécrosés est généralement rouge. Cependant quelques-uns d'entre eux ne se colorent pas.

9. *Réactif de Schweitzer*. — Les tissus nécrosés ne sont pas dissous par ce réactif de la cellulose.

10. *Action de la potasse à chaud*. — La potasse à chaud détermine une sorte de dilatation de la cellule contractée par la nécrose ; nous croyons que c'est par suite de la dissolution de la substance nécrotique qui imprègne la membrane.

11. *Iode et eau de Javel*. — En traitant les coupes par une solution d'iode et d'iodure de potasse suivie d'un lavage à l'eau de Javel, on peut obtenir, comme avec la potasse à chaud, la dilatation des cellules contractées ; l'action de l'eau de Javel seule ne produit pas le même effet.

En résumé, nous avons constaté par les méthodes indiquées ci-dessus que :

1^o Les membranes cellulaires des plantes malades sont très riches en composés pectiques.

2^o La plupart des membranes épaisses sont lignifiées ou subérifiées.

Les auteurs qui ont fait l'étude histologique de la nécrose ont cru que la maladie commençait par la membrane cellulaire pour se propager seulement ensuite à la cavité de la cellule. Ainsi Arstchwager et Foëx ont décrit ainsi le processus de la maladie :

« Généralement la maladie se manifeste d'abord dans les angles cellulaires qui se gonflent, jaunissent ou brunissent. L'épaississement qui se produit ainsi peut s'étendre à la couche moyenne d'une ou de plusieurs parois adjacentes et gagner ainsi de proche en proche les cellules voisines. Souvent, seules les parois alignées dans une direction déterminée sont intéressées par ce gonflement. Mais tel n'est pas toujours le cas.

Quoi qu'il en soit, la modification que subit la membrane progresse de sa partie *médiane vers la cavité cellulaire* qu'elle n'atteint en général pas ; en effet une lame demeurée indemne revêt le plus souvent cette dernière. » (Foëx).

Pour Quanjer et Brehmer, le mal ne débute pas dans les angles des cellules, mais spontanément dans les espaces intercellulaires. L'épaississement dans les angles est sans relation aucune avec la nécrose, mais lorsque le mal est très avancé, il se produit parfois, par influence, un gonflement angulaire (v. Brehmer).

Brehmer, qui établit une distinction entre la nécrose et la nécrobiose, admet que l'épaississement dans les angles est caractéristique de la nécrobiose tandis que dans la nécrose, tout au moins au début, on n'observe de modifications que dans les espaces compris entre les cellules quand elles se remplissent d'une substance amorphe.

Il semblerait, d'après lui, que la nécrose apparaîtrait de préférence dans les tissus nécrobiotiques. « Es scheint, als ob Nekrose mit Vorliebe im nekrobiotischen Gewebe auftritt. » Ce serait dans la substance gélifiée des espaces

intercellulaires peut-être sous l'influence d'un excitant que la nécrose se déclarerait, la maladie trouvant dans cette région un milieu plus favorable que celui qu'elle rencontre dans l'intérieur des cellules. « Sind Erreger die Ursache der Nekrose, dann scheinen sie in der Quellschubstanz einen günstigeren Nährboden zu haben, als im Inhalt der Zelle. »

Les observations de Foëx qui, négligeant le protoplasma, s'est exclusivement occupé des membranes, sont exactes, mais ainsi que nous l'avons indiqué plus haut, l'étude cytologique nous a montré que la maladie débute non dans la membrane, mais dans le cytoplasme lui-même. Dans presque tous les cas c'est au niveau du cytoplasme qu'apparaissent les premières altérations morbides. Le cytoplasma présente d'abord des altérations que nous avons décrites plus haut ; et plus tard, et seulement quand le cytoplasme est mort, la membrane cellulaire s'amincit et se contracte ; les cellules contractées se séparent de leurs voisines, ce qui détermine la formation de fissures plus ou moins larges. Dans certains cas, bien observés par Foëx, la membrane se colore partiellement en jaune, avant toute altération cytoplasmique, mais ces cas sont exceptionnels et la règle générale reste que le cytoplasma est le siège des premières altérations.

Les parois des cellules saines en contact avec les substances nécrotiques émigrées de la cellule en voie de destruction réagissent en s'épaississant peu à peu, pour résister en quelque sorte à l'invasion des produits nécrotiques. Cet épaississement n'est pas localisé dans les angles externes des cellules, il affecte toutes les portions des membranes qui avoisinent le foyer nécrotique.

C'est donc par erreur que l'on a souvent cru que les premières phases de la maladie se manifestaient par un gonflement des angles des cellules, suivi ultérieurement

del'épaississement de la couche moyenne des membranes cellulaires.

La cellule nécrosée ou bien, dans certains cas, le groupe des cellules nécrosées se réduisent à une masse compacte refoulée par les cellules saines voisines, il en résulte que souvent on n'aperçoit qu'une bande noire dont la signification n'a pas été comprise par tous les auteurs.

C'est ainsi que Foëx a cru que la matière intersticielle noire n'était pas autre chose que la paroi épaissie et colorée des cellules voisines du foyer nécrotique. Par suite de cet épaississement la cavité de la cellule ou du groupe de cellules nécrosées se réduirait au point de ne plus être reconnaissable.

Quanjer et Brehmer ont désigné sous le nom de vraie nécrose les substances nécrotiques contenues dans la cellule nécrosée et pour eux les membranes épaissies des plantes malades aussi bien que celles des plantes saines étaient à l'état de nécrobiose.

Artschwager et Foëx ont signalé des cas de nécrose dans le péricycle, le parenchyme ligneux et même le parenchyme cortical.

Nous n'avons jamais observé de foyers nécrotiques véritables dans ces tissus et il nous semble que la maladie n'affecte au début que les tubes criblés et les vaisseaux premiers formés. Plus tard seulement elle se propage dans les parenchymes voisins ; lorsqu'il y a épaississement des membranes c'est un indice de la présence d'un foyer nécrotique (fig. 2 et 3, pl. II).

CHAPITRE V

RECHERCHES SUR LA PRÉSENCE DES PARASITES

La maladie de l'enroulement a été attribuée, par de nombreux auteurs, à des parasites ; on a cru reconnaître la présence de Protozoaires, de Champignons filamenteux, de Bactéries visibles ou invisibles. L'action d'un virus filtrant a aussi été envisagée.

De notre côté, nous avons cherché à vérifier les dires des savants qui ont abordé la question.

Dans ce but, nous avons eu recours, en premier lieu, aux colorations vitales dont nous avons parlé précédemment.

En outre, nous nous sommes servis du liquide de Giemsa L, du Panchrome, du liquide de May-Grünwald.

Ces colorants ont été employés directement sur des frottis ou des coupes fraîches, avec ou sans fixation.

C'est à l'aide de ces colorants que Nelson a cru reconnaître que les pommes de terre malades pouvaient héberger des Protozoaires.

Ce ne sont d'ailleurs pas uniquement les Protozoaires, qui peuvent être décelés par ces méthodes, puisque les Champignons filamenteux et même les Bactéries prennent très bien, eux aussi, le colorant.

Nous avons parfois aussi employé les colorants basiques tels que la méthode de Gram pour les Bactéries, le bleu coton et le bleu de méthylène pour les Champignons filamenteux.

Nous n'avons pas laissé de côté l'étude à l'ultramicroscope des coupes fraîches et des frottis et nous avons également entrepris de nombreuses cultures sur des milieux artificiels.

Voici comment nous avons procédé pour élucider la question des parasites :

Nous nous sommes servis de frottis prélevés sur les divers organes de la plante et nous avons employé les méthodes suivantes :

A. FROTTIS. — Ces frottis, après séchage à l'air libre, ont été fixés et colorés par les méthodes suivantes :

1° *Méthode panoptique.* — On verse sur le frottis 10 gouttes de liquide de May-Grünwald (les préparations étant mises à l'abri dans une boîte de Petri) ; au bout de trois minutes, on ajoute X gouttes d'eau distillée, on laisse agir une minute, puis on rejette le colorant dilué et sans laver, on verse sur le frottis du Giemsa L dilué dans la proportion de III gouttes pour 2 cc. d'eau distillée. On laisse agir 15 minutes, puis on lave rapidement à l'eau ordinaire.

Si la coloration est trop intense on peut différencier par l'acide borique à 1 % ou le phosphate monosodique à 1 %.

Dès que le lavage est terminé on sèche les frottis par compression dans un cahier de papier Joseph.

L'examen doit se faire dans l'huile de cèdre sans lamelle.

2° *Méthode du panchrome.* — Le frottis est placé, comme précédemment, dans une boîte de Pétri, on verse dessus XV gouttes du liquide de panchrome qu'on laisse agir pendant 3 minutes. Ce temps écoulé, la préparation est fixée, on verse alors 10 centimètres cubes d'eau distillée neutre. On laisse agir 15-20 minutes au moins, on lave, différencie et sèche comme plus haut.

3° *Méthode du Giemsa L rapide.* — On verse sur le frottis

X gouttes de colorant pur (Giemsa 1) et on laisse agir pendant 30 secondes, puis on ajoute autant de centimètres cubes d'eau distillée qu'on a mis de gouttes de colorant. On mélange et on laisse agir le colorant pendant 30 minutes.

On finit par un lavage à l'eau distillée puis on fait sécher la préparation.

Les frottis de tiges et de feuilles ont été colorés en rouge ou en bleu par des méthodes sus-indiquées, mais aucune trace de parasite n'y a été observée. Il en est de même pour les frottis de fruits et de tubercules mères persistants ; les noyaux de ces organes ont pris une belle coloration rouge vif et les nucléoles qu'ils renferment se sont colorés en bleu.

Seuls les tubercules mères en voie de putréfaction révélaient dans leur intérieur des Protozoaires colorés en rouge et des Bactéries colorées en bleu ; la présence de ces organismes en ces lieux n'a rien de surprenant puisqu'ils abondent dans le sol et ne sont pour rien dans la maladie de la pomme de terre.

B) COUPES FRAICHES. — Nous avons également observé des coupes fraîches faites dans des plantes saines et des plantes malades.

Ces coupes ont été fixées et colorées par les méthodes employées pour les frottis.

Au lieu de les faire sécher dans du papier Joseph, nous les avons deshydratées par le passage successif dans les quatre liquides suivants (1) :

1. Acétone 95 cc. + xylol 5 cc.
2. Acétone 70 cc. + xylol 30 cc.
3. Acétone 70 cc. + xylol 30 cc.
4. Xylol pur.

1. L'acétone a sur l'alcool absolu l'avantage de décolorer très lentement : il produit en même temps une légère différenciation.

Les coupes deshydratées ont été montées dans l'huile de cèdre.

Les coupes de feuilles de plantes saines montrent que les cellules du parenchyme possèdent un petit cytoplasme très plasmolysé et peu abondant ; le noyau assez petit a une teinte bleuâtre ou rougeâtre, il contient un seul nucléole coloré en bleu. Les chloroplastes prennent également la coloration bleue ; l'amidon reste incolore.

Les cellules parenchymateuses de la tige présentent les mêmes colorations que celles de la feuille ; le contenu des tubes criblés prend parfois une teinte rouge clair.

Les coupes des feuilles des plantes malades permettent de reconnaître que le cytoplasme des cellules parenchymateuses est très dense et faiblement plasmolysé ; il contient d'abondantes granulations de formes variées qui se colorent d'ordinaire en bleu. Le noyau, volumineux, se colore en rouge vif ; Le nucléole se colore en bleu.

Les cellules nécrosées du parenchyme libérien de la tige renferment des masses denses qui prennent une coloration rouge très intense ;

Le contenu des tubes criblés, se colore plus fortement en rouge que chez les plantes saines.

C) COUPES FIXÉES ET COLORÉES. — Les coupes fixées par le liquide de Bouin ou celui de Schaudinn sont colorées par le liquide de Giemsa L dilué dans les proportions d'une goutte pour 100 cc. d'eau distillée ; l'opération est répétée deux fois. La première fois pendant une demi-heure et la seconde fois pendant douze heures. Les préparations lavées rapidement dans de l'eau distillée sont différenciées et deshydratées comme dans le cas du frottis et des coupes fraîches.

Les colorations obtenues sont les mêmes que celles fournies par les coupes fraîches, mais leur intensité est beaucoup moindre.

Nous avons eu aussi recours au colorant de Mann, pour les coupes fixées.

Le colorant de Mann est un mélange de bleu de méthylène et d'éosine dans les proportions suivantes :

Bleu de méthylène à 1% dans l'eau distillée...	45 cc.
Eau distillée.....	100 cc.

Les coupes, après lavage, sont placées 40 minutes dans le colorant, lavées à l'eau puis traitées par l'alcool absolu et le xylol.

Pas plus qu'avec le colorant de Giemsa on n'observe de différence bien marquée entre les coupes fraîches et les coupes fixées.

Les diverses méthodes que nous avons employées pour déceler la présence des parasites, nous ont permis de confirmer, dans le cas de l'enroulement de la Pomme de terre, les résultats que Bailey et Mc Kinney ont rapporté au sujet des plantes affectées de mosaïque, et qui réduisent à néant les conceptions de R. Nelson.

D'après nos observations, les masses denses et les granulations contenues dans les cellules ne sont autre chose que des matières albuminoïdes, ainsi qu'en témoigne la coloration que ces diverses coupes prennent au contact de l'éosine.

Les granulations qui se colorent en bleu sont, sans aucun doute, du tanin.

Les formes diverses que prennent les noyaux dépendent des mouvements protoplasmiques ou d'autre facteurs et il est surprenant que M. Nelson ait confondu ces noyaux avec des Flagellés qui n'ont absolument aucune ressemblance avec eux.

La recherche des Bactéries effectuée par la méthode de Gram ne nous a pas permis de déceler, en dehors des espèces banales, la présence des micro-organismes spé-

ciaux dans les plantes atteintes de la maladie de l'enroulement.

Les colorations par le bleu coton à 1 % et le bleu de méthylène à 1 % effectuées tant sur des coupes fraîches que sur des coupes fixées, ont donné des résultats négatifs en ce qui concerne les Champignons ; nous n'avons, en effet, jamais vu les filaments mycéliens signalés par Masoci Himmelbaur et Martin Duncan.

L'emploi de l'appareil à fond noir ne nous a pas permis de déceler la présence d'organismes auxquels on pouvait attribuer un rôle dans la maladie de dégénérescence.

Les cultures en milieu artificiel ne nous ont également fourni aucun résultat.

A titre de simple renseignement, nous indiquons ci-dessous les divers milieux de culture dont nous nous sommes servis.

1^o Milieu M. N. N. (formule Ch. Nicolle), ce milieu employé spécialement pour la recherche des Protozoaires se prépare de la façon suivante :

Eau ordinaire.....	900 gr.
Gélose.....	14 gr.
Sel marin.....	6 gr.

2^o Les cultures de Bactéries et de Champignons ont été essayées sur Carottes, sur Pommes de terre et sur milieux gélosés, lesensemencements faits cependant avec le plus grand soin n'ont donné naissance qu'à des espèces banales qui certainement ne jouent aucun rôle dans la maladie de l'enroulement.

CHAPITRE VI

ÉTUDE HISTOCHIMIQUE DU CONTENU CELLULAIRE

La maladie de dégénérescence paraît liée aux difficultés qu'éprouvent les matières azotées à circuler dans le corps des plantes. Nos recherches cytologiques ont montré que le contenu cellulaire était profondément modifié chez les plantes malades ; il nous a, par conséquent, paru intéressant de faire une étude chimique comparée du contenu cellulaire des plantes saines et des plantes malades.

A. — Glucides.

I. — RECHERCHE DES GLUCOSES.

Pour déceler la présence des glucoses, nous nous sommes servi de plusieurs réactifs.

1. *Phénylhydrazine*. — La phénylhydrazine donne des résultats assez précis lorsqu'on l'emploie sous forme de chlorhydrate en solution à 1 % dans la glycérine, et qu'on la mélange, sur la préparation, à de l'acétate de sodium également en solution à 1 % dans la glycérine.

Si les coupes ont été maintenues pendant une demi-heure dans la solution chauffée au bain-marie, on voit dans les cellules des feuilles malades d'abondants composés cristallisés, colorés en jaune foncé ; ces composés

cristallisés ne s'observent qu'en très petite quantité dans les plantes saines.

2. *Liqueur de Fehling.*

La liqueur de Fehling résulte on le sait du mélange de deux solutions :

A) Sulfate de cuivre,.....	40 gr.
Eau.....	300 gr.
Soude en plaque.....	130 gr.
B) Tartrate neutre de potassium.....	160 gr.

La solution cuprique est versée dans la solution alcaline, puis chauffée à ébullition pendant 1/4 h. ; après avoir décanté on complète avec 1.000 cc. d'eau distillée.

Les coupes fraîches de feuilles malades chauffées dans la liqueur de Fehling présentent des précipités jaune rougeâtre très abondants surtout dans les cellules épidermiques et les poils.

Les précipités sont en plus faible quantité dans les feuilles saines.

Nous sommes en cela en désaccord avec M. Beauverie qui a cru que les sucres réducteurs chez les plantes malades sont en faible quantité par suite de leur condensation en matières amylacées.

2. — RECHERCHE DE L'AMIDON.

La solution de Lugol (iodure de potassium 2 gr. ; iode 1 gr. ; eau distillée 200 cc.) donne une coloration tellement intense au contenu cellulaire, que celui-ci est absolument masqué ; les fragments de chloroplastes sont noyés au sein de la masse noire formée par la multitude de grains d'amidon.

3. — RECHERCHE DES HÉTÉROGLUCOSIDES.

a) *Solanoside.*

Le solanoside, glucoside à radical alcaloïdique se trouve normalement dans les organes jeunes : tiges, tubercules, feuilles et chez les plantes saines ; elle diminue au cours du développement jusqu'à disparaître à peu près complètement si les organes restent à l'obscurité ; les points végétatifs seuls en conservent des traces (1). Si le développement a lieu à la lumière, les points végétatifs conservent du solanoside en quantité notable.

Nous avons essayé la localisation du solanoside à l'aide du réactif de Bouchardat (iodure de potassium 3 gr. ; iode 1 gr. ; eau distillée 100 cc.). Ce réactif donne un précipité brun.

Chez les plantes malades, nous avons constaté que le solanoside persistait à l'obscurité ; les cellules épidermiques des organes adultes ainsi que les points végétatifs renfermaient un abondant précipité après un long séjour dans un lieu sombre.

Le phelloderme des tubercules de ces mêmes plantes s'est toujours montré beaucoup plus riche en solanoside que celui des tubercules de plantes saines.

Nous nous sommes également servi pour la localisation du solanoside du réactif de Mandelin (vanadate d'ammonium au 1/1000, acide sulfurique concentré 98 parties, eau 36 parties) ; les colorations obtenues passent successivement du jaune à l'orange puis au rouge, au bleu violet et finalement disparaissent.

1. Ph. Molle, *Recherches de microchimie comparée sur la localisation des alcaloïdes dans les Solanacées* (Mémoire de l'Académie Royale de Belgique, 4, III, 1895).

La coloration rouge s'obtient également quand on met les coupes en contact avec l'acide trichloracétique ou l'acide sulfurique tri-hydraté (1).

b) *Anthocyane.*

Les pigments anthocyaniques se rencontrent normalement chez certaines variétés de Pomme de terre, mais ils peuvent manquer totalement chez d'autres variétés. Nous avons choisi exprès ces dernières variétés pour effectuer nos recherches.

Le réactif que nous avons employé est celui de Courtonne (acétate de plomb à 30 %). Ce réactif, mis au contact d'organes sains, ne donne aucune coloration, mais si on le fait agir sur une feuille malade on voit apparaître, en particulier dans l'épiderme de la face inférieure et dans la plupart des cellules du mésophylle, un précipité vert foncé caractéristique ; ce précipité peut se présenter sous forme d'une masse compacte ou bien être disséminé à l'intérieur des cellules.

c) *Tanin.*

Les observations faites au moyen de la méthode de Regaud nous ont déjà montré que les tanins sont beaucoup plus abondants dans les vacuoles des plantes malades que

1. Ces réactions ne sont pas caractéristiques du solanoside car plusieurs autres substances contenues dans le suc cellulaire peuvent se colorer d'une façon identique, entre autre la phytostérol ; nous avons cherché si ce corps existait chez la Pomme de terre et dans ce but nous avons employé la digitonine en solution alcoolique ; les résultats obtenus ont été négatifs.

dans celles des plantes saines ; la méthode de Regaud comporte, en effet, une fixation dans un liquide à base de bichromate de potassium, qui précipite les tanins sous forme de globules colorés en jaune. Nous allons indiquer ici quelques autres réactions qui démontrent cette grande abondance des tanins dans les vacuoles des plantes malades.

Nous avons procédé à la recherche des tanins à l'aide des réactifs suivants : bichromate de potassium, chloromolybdate d'ammoniaque, acide osmique, sels de fer, sels de plomb, eau de chaux, solution de potasse et de soude, réactif de Gautier, acides, eau de brome.

1. *Bichromate de potassium.* — Le bichromate de potassium en solution de 3-5 %, donne un précipité jaune-brun ou rouge. Le précipité est très abondant dans le vacuome des cellules des plantes malades (fig. 12) il est très faible chez les plantes saines (fig. 13).

2. *Chloro-molybdate d'ammoniaque.* — Le chloromolybdate d'ammoniaque se prépare en mélangeant une solution de molybdate d'ammoniaque à 20 % avec une petite quantité de chlorure d'ammoniaque. Le tanin, après un contact de 5 m. avec ce réactif se colore en jaune foncé chez les plantes malades, il ne prend qu'une teinte jaunâtre chez les plantes saines.

3. *Acide osmique.* — L'acide osmique à 2 % est réduit par le tanin et l'on voit apparaître dans les vacuoles, une coloration noir foncé lorsqu'on s'adresse à des plantes malades et grisâtre s'il s'agit de plantes saines.

4. *Sels de fer.* — Les solutions concentrées de perchlorure de fer déterminent la formation d'un précipité noir verdâtre chez les feuilles malades et un faible précipité verdâtre chez les feuilles saines.

5. *Sels de plomb.* — La solution concentrée d'acétate de plomb que nous avons précédemment employée pour la

détection de l'anthocyane précipite le tanin en jaune ; le précipité est très abondant chez les feuilles malades, à peine visible chez les feuilles saines.

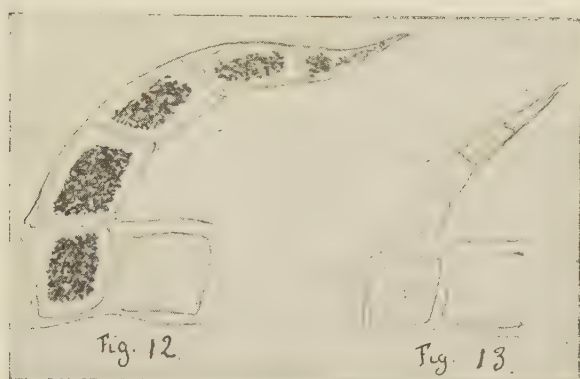


FIG. 12 et 13.

Fig. 12. — Coupe fraîche de feuille enroulée montrant que le tanin forme un abondant précipité coloré de façons variées suivant le réactif employé (l'acétate de plomb donne un précipité jaune, le perchlorure de fer un précipité violet, etc.).

Fig. 13. — Coupe fraîche d'une feuille saine montrant qu'il y a pour ainsi dire absence de précipité.

6. *L'eau de chaux*, à saturation, donne un précipité granuleux qui se montre en grande quantité chez les plantes malades et fait presque entièrement défaut chez les plantes saines.

1° *Les solutions alcalines de potasse ou de soude à 2 %* donnent de belles colorations si on prend soin de laisser les coupes en contact avec elles pendant 10 heures à l'air libre.

Le tanin du vacuome est coloré en rouge brun ou en jaune foncé ; le noyau et le cytoplasme de certaines cellules de plantes gravement malades peuvent prendre la coloration caractéristique du tanin, mais plus faiblement

accusée ; ce phénomène ne s'observe jamais dans les plantes saines.

Les membranes de quelques cellules nécrosées dépourvues normalement de coloration prennent, au contact du réactif, la teinte rouge brun ou rouge foncé que présentent souvent les cellules nécrosées.

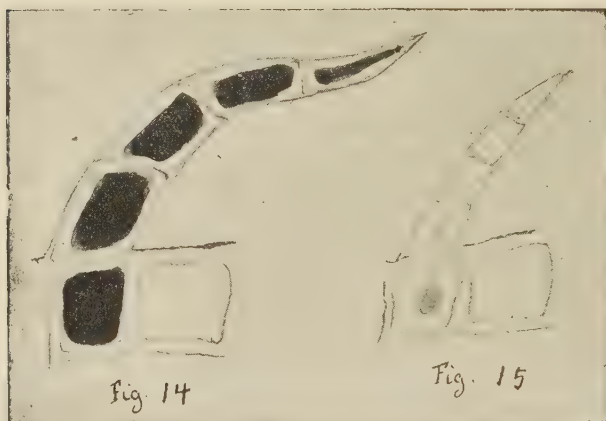


FIG. 14 et 15.

Fig. 14. — Coupe fraîche de feuille enroulée dans laquelle le tanin est mis en évidence par un colorant.

Fig. 15. — Coupe fraîche d'une feuille saine très pauvre en tanin.

Ce résultat est intéressant puisqu'il nous montre que, dans les cas graves, le tanin vacuolaire, à l'intérieur des cellules nécrosées, se fixe sur la membrane cellulaire.

8° *Réactif de Gautier*. — Le réactif de Gautier est une solution aqueuse d'acétate de cuivre au 30° ; ce réactif très précis donne un précipité jaune foncé dans les cellules des feuilles de plantes malades avant que l'enroulement se soit produit ; mais, fait remarquable, le précipité n'apparaît pas chez les feuilles enroulées.

9° *L'action des acides* tels que l'acide sulfurique trihydraté, l'acide trichloracétique varie avec l'âge de la feuille.

Dans les organes jeunes on observe une coloration rouge intense due probablement au solanoside.

Dans les organes âgés, la coloration est jaune ou brune, ce qui indique la présence du tanin. Cette coloration est beaucoup plus marquée chez les plantes malades (fig. 14) que chez les plantes saines (fig. 15).

EXTRACTION DU TANIN.

Nous avons essayé d'extraire le tanin par les procédés ordinaires, c'est-à-dire en traitant successivement les feuilles broyées au mortier, et mélangées avec du sable, par l'eau puis par l'alcool.

Les liquides, eau ou alcool, après avoir été filtrés ont été traités par les réactifs suivants :

1° Acétate de zinc ammoniacal (27 gr. acétate de zinc, 60 cc. ammoniacque, 100 cc. eau distillée).

Solution aqueuse : néant.

Solution alcoolique : néant.

2° Bichromate de potassium :

Solution aqueuse : néant.

Solution alcoolique : néant.

3° Perchlorure de fer :

Solution aqueuse : très faible.

Solution alcoolique : coloration verdâtre.

4° Eau de chaux :

Solution aqueuse : précipité très faible.

Solution alcoolique : précipité très faible.

5° Eau de brome :

Solution aqueuse : néant.

Solution alcoolique : néant.

6° Chloromolybdate ammoniacal :

Solution aqueuse : néant.

Solution alcoolique : néant.

En résumé, par les procédés d'extraction ordinaires, on ne peut obtenir des réactions suffisantes qui permettent de montrer que le tanin des plantes malades n'est pas plus susceptible d'être libéré en solution aqueuse qu'en solution alcoolique.

B. — Lipides.

RECHERCHE DES GRAISSES.

Nous avons employé comme réactifs des matières grasses le Soudan III, le bleu d'indophénol, l'acide osmique.

La présence des matières grasses, d'après les réactions obtenues, est singulièrement exagérée chez les plantes malades.

C. — Protides.

1. RECHERCHE DES PROTÉINES.

Nous avons décelé les protéines au moyen des réactions suivantes :

1° *Réactif de Millon*. — Le réactif de Millon, employé à chaud, mis au contact des coupes de feuilles malades colore nettement en rouge le contenu cellulaire ; la coloration est beaucoup plus faible chez les plantes saines.

Lorsqu'on opère sur des coupes fixées, de préférence des sections de tige, on obtient des résultats intéressants, si l'on a soin d'éliminer le solanosidè, les sucres, le tanin, les pigments, les matières grasses, les composés pectique, etc.

L'élimination du solanoside, des sucres et des pigments, s'effectue à l'aide de l'acide tartrique à 5 % en solution alcoolique : l'alcool coagule les protéines ; en même temps il dissout les sucres et les pigments ; l'acide tartrique s'unit à l'alcaloïde pour former une tartrate d'alcaloïde soluble dans l'alcool ; le tanin qui, normalement, est dissout par l'alcool tartrique ne disparaît pas chez les plantes malades parce qu'il est probablement uni aux matières albuminoïdes.

Les coupes, après avoir subi l'action de l'alcool tartrique, sont lavées par une nouvelle solution d'acide tartrique, puis placées dans l'éther pour se débarrasser des matières grasses et enfin dans l'eau bouillante afin de dissoudre les composés pectiques.

Les coupes des plantes malades après cette série de préparations sont soumises à l'action du réactif de Millon : les membranes épaissies des cellules nécrosées, les substances nécrotiques intracellulaires et celles contenues dans les méats prennent une belle coloration rouge. Les membranes non épaissies de quelques cellules à peu près indemnes, colorées naturellement en brun, virent également au rouge. Ce fait était constaté par Brehmer.

On peut également employer à la place du réactif de Millon, le réactif de Bouchardat, la solution d'éosine à 0,50 %, la solution d'acide picrique, la réaction du biuret, la réaction xanthoprotéique, etc.

2. *Le réactif de Bouchardat* colore en brun les éléments qui se colorent en rouge par le réactif de Millon.

3. *La réaction du biuret* colore en rouge violet les protéines. La réaction est beaucoup plus intense chez les plantes malades que chez les plantes saines.

4. *La réaction xanthoprotéique*. Pour obtenir cette réaction on traite les coupes avec l'acide azotique : les protéines se colorent en jaune d'autant plus rapidement qu'on

élève la température. Si l'on plonge les coupes dans une solution de soude, d'ammoniaque ou de potasse, la coloration jaune passe à l'orangé ; la teinte est beaucoup moins intense chez les plantes saines que chez les plantes malades.

Toutes ces réactions montrent que les protéines sont beaucoup plus abondantes dans les plantes malades que dans les plantes saines. Ces protéines des plantes malades sont évidemment localisées dans les vacuoles ; ce sont elles, sans aucun doute, qui donnent naissance aux précipités que l'hématoxyline colore en noir ou la fuchsine en rouge, dans les coupes de tiges ou de feuilles, fixées par les liquides de Meves ou de Bouin (v. p. 37, 66, 67).

D'autre part, nous rappelons que les tanins ne peuvent pas être extraits par les méthodes ordinaires (v. p. 73 et 74) ; nous rappelons aussi que la coloration vitale permet de reconnaître la présence, dans les vacuoles vivantes, de globules d'une substance insoluble. Peut-être serait-il possible d'expliquer tous ces faits en admettant que les protéines sont à l'état de combinaison avec les tanins, sous forme de tannates insolubles de protéine sans doute.

2. RECHERCHE DES ACIDES AMINÉS.

a) *Tyrosine*. — La tyrosine est un dérivé de la phénylaline peu soluble dans l'eau et soluble dans l'alcool ; elle cristallise en fines aiguilles souvent groupées en pinceau.

En pratiquant des coupes dans de jeunes feuilles étiolées de plantes saines et en soumettant ces coupes à l'action de l'alcool entre lame et lamelle, on constate, après évaporation, l'apparition de fines aiguilles soyeuses.

Chez les plantes malades, après un pareil traitement, nous n'avons vu apparaître aucun cristal de tyrosine.

b) *Leucine*. — La leucine ou acide aminocaproïque est, avec la tyrosine, l'acide aminé le plus fréquent et le plus abondant chez les Végétaux. Elle cristallise en lamelles incolores souvent groupées en sphérules peu solubles dans l'eau ; elle a la propriété de se sublimer aisément.

Les coupes faites comparativement dans des jeunes feuilles de plantes saines et de plantes malades, maintenues à l'obscurité pendant quelques jours, ont été soumises à la dessiccation puis chauffées dans un petit tube. Dans ces coupes, les sphérules de leucine se sont montrées très abondantes chez les échantillons prélevés sur les plantes malades, tandis qu'ils étaient assez rares chez les plantes saines.

c) *Asparagine*. — L'asparagine est un amide de l'acide aspartique. On peut l'obtenir sous forme de cristaux en la traitant par l'alcool, mais il est préférable d'employer la *glycérine* pure ; dans ce réactif elle cristallise en prismes rhombiques hémiedriques qui se distinguent nettement des cristaux de tyrosine.

Les coupes traitées par l'alcool ne fournissent qu'un petit nombre de cristaux aussi bien chez les plantes saines que chez les plantes malades ; au contraire, si l'on emploie la *glycérine*, les cristaux se montrent en beaucoup plus grande abondance chez les plantes saines.

D. — Remarques sur les modifications de la chlorophylle.

Les chloroplastes, on le sait, se décolorent lorsqu'on place les tissus verts dans l'alcool ; or, lorsqu'on fait séjourner dans l'alcool absolu même plusieurs jours un fragment de la feuille malade, la décoloration est très peu marquée : les chloroplastes conservent leur colora-

tion vert jaunâtre particulièrement autour des grains d'amidon ; leur substance renferme de petites granulations d'un vert intense qui semblent être des fragments de chlorophylle (12 à 13. Fig. 1, pl. VIII).

On a supposé que, dans les chloroplastes normaux, les chlorophylles *a* et *b* étaient en combinaison, soit avec des protéïdes, soit avec des lipoïdes.

L'insolubilité dans l'alcool fort des chlorophylles des plantes malades est un phénomène très curieux, qui laisserait croire que dans les chloroplastes de ces plantes, les chlorophylles se trouvent dans des combinaisons spéciales, peut-être à plus grosses molécules que dans les feuilles saines.

CHAPITRE VII

QUELQUES FAITS D'ORDRE PHYSIOLOGIQUE

Nous avons étudié les modifications de la pression osmotique et de l'acidité ainsi que les variations de la teneur en tanin, en albuminoïdes et en amylacés par la modification de l'intensité de lumière.

1. Modifications de la pression osmotique.

Nous avons eu recours à la méthode par plasmolyse à l'aide de solutions hypertoniques telles que le saccharose à 342 gr. ‰ (solution normale) ou de divers sels (chlorure de sodium ou de potassium) à 10 ‰.

Les cellules épidermiques des jeunes tiges ou des jeunes feuilles dont l'enroulement est commencé, plasmolysent difficilement, et il ne se produit qu'un très léger décollement de la membrane cytoplasmique (fig. 16). Ces mêmes cellules dans la plante saine éprouvent une plasmolyse brutale, leur cytoplasme complètement séparé de la membrane cellulosique se contracte en une masse irrégulière qui parfois se morcelle en tronçons (fig. 17).

Nos expériences ont été faites sur des cellules épidermiques de jeunes bourgeons de plusieurs variétés ; nous avons utilisé des solutions de saccharose à des concentrations diverses nous avons constaté que la pression osmotique varie avec l'état sanitaire des plantes comme le montre le tableau suivant :

La variété et son état sanitaire	Cellules	Concentration de saccharose	Température	Début de plasmolyse
Triomphe saine	épiderme du bourgeon	8 %	20°	5 minutes
— enroulée	—	16 %	—	—
Pepo saine	—	9 %	—	—
— enroulée	—	16 %	—	—
Parnassia saine	—	8,5 %	—	—
— enroulée	—	15,5 %	—	—
Arrancamad peu malade	—	12 %	—	—
— très malade	—	17 %	—	—

Ces comportements différents chez la plante saine et la plante malade montrent que chez la plante malade la

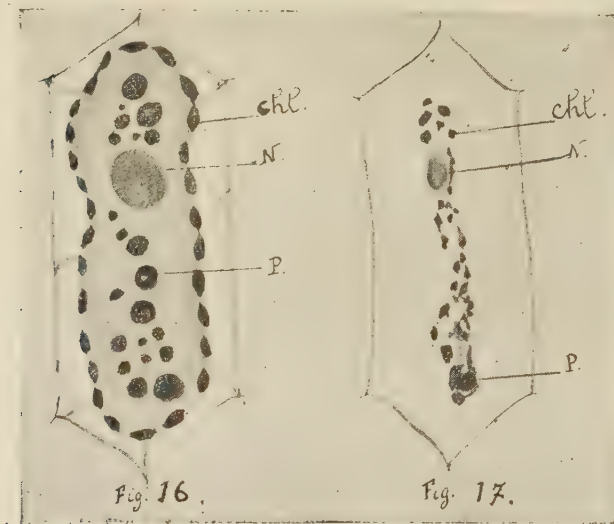


FIG. 16 et 17.

Fig. 16. — Cellule épidermique fraîche de jeune pousse née sur un tubercule issu de plante malade, traitée par une solution de chlorure de sodium à 10 o/o additionnée d'une petite quantité d'éosine. La plasmolyse est très peu accentuée. (N) noyau, (p) nombreux corpuscules colorés en violet foncé, (chl) chloroplastes.

Fig. 17. — Cellule épidermique fraîche de jeune pousse née sur un tubercule issu de plante saine, traitée par la même méthode que ci-dessus. Plasmolyse brutale. (N) noyau, (p) corpuscules colorés en rouge (chl) chloroplastes en partie fragmentés par la solution.

pression osmotique est plus élevée que chez la plante saine.

Beauverie, opérant sur une plante atteinte depuis longtemps d'un fort enrroulement, a provoqué un gonflement des chloroplastes accompagné de la formation, à leur intérieur, de granules incolores répartis à leur périphérie ; pour obtenir la vésiculation des chloroplastes, il lui a suffi de monter pendant quelques minutes des coupes fraîches dans l'eau ordinaire ou l'eau distillée. Ces phénomènes sont, dit-il, en tout point semblables à ceux que l'on observe quand on soumet des chondriosomes à l'action des liquides hypotoniques. Il en résulterait que les chloroplastes des feuilles malades sont plus sensibles aux actions hypotoniques que ceux des plantes saines. Beauverie explique ce fait en admettant que l'état hypotonique est déterminé par la pauvreté en sucre du contenu cellulaire. La faible proportion de sucre est, selon lui, due à ce que l'amidon se forme sur place dans les feuilles ; les monosaccharides produits par la photosynthèse deviennent des polysaccharides par condensation des molécules ; c'est cette condensation des molécules qui déterminerait l'hypotonie. Nos observations ne confirment donc pas celles de Beauverie.

2. Modification de l'acidité :

MESURE DU PH VACUOLAIRE.

Nous avons recherché quel était le degré d'acidité des cellules des feuilles malades comparé avec celui des cellules des feuilles saines (1) ; dans ce but, nous avons employé les colorants vitaux en utilisant le tampon.

1. Wagner, en 1916, Pearsal et Ewing, en 1924, ont étudié l'acidité de la Pomme de terre en se servant du jus extrait de la plante ; ils n'ont pas spécifié s'il s'agissait de plantes saines ou de plantes malades.

Voici quelle a été notre façon d'opérer :

Nous avons employé parallèlement les deux techniques d'écrasement et de coloration vitale pour la mesure du pH vacuolaire en tenant compte des critiques et des différents *modus operandi* des auteurs (A. Eichhorn et M. Parat).

L'écrasement a été pratiqué selon la technique de Vlès dans les différents indicateurs appropriés (colorant universel B.D.H. ; indicateur de Clark) ; comme colorant vital, nous avons surtout employé le rouge neutre.

L'évaluation des teintes a été faite selon les procédés de Needham et de Pantin, par comparaison avec des échelles de tampons étalonnées préalablement par mesure électrométrique.

a) Feuilles de plantes malades :

Poils,	pH vacuolaire	< 3
Cellules épidermiques	—	< 5
Cellules parenchymateuses	—	< 5

b) Feuilles de plantes saines :

Poils,	pH vacuolaire	< 6
Cellules épidermiques	—	< 6
Cellules parenchymateuses	—	= 6,9

Le contenu des cellules de plantes atteintes est, on le voit, beaucoup plus acide que celui des plantes saines.

3. Influence de la lumière.

Dès 1913, Quanjer a remarqué que la maladie est plus accentuée au soleil qu'à l'ombre. D'autres auteurs, plus récemment, ont fait les mêmes constatations que Quanjer, mais aucun d'entre eux n'a pu donner des explications sur ce phénomène.

Nous avons tâché de jeter un peu de lumière sur ce point intéressant en ayant recours à la méthode expéri-

mentale avec, comme corollaire, un examen histologique et microchimique des plantes malades.

1^o *Méthode expérimentale.* — Nous avons choisi des plantes de Kerrswite très atteintes, ayant végété à la lumière et nous les avons mises à l'ombre dans un local chauffé à 20 à 25° (serre du P. C. N.) et arrosées copieusement. L'expérience a duré un mois ; au bout de ce laps de temps, la plante avait complètement changé d'aspect. Ses feuilles, primitivement enroulées, étaient devenues plates ; sa tige, qui au début n'avait que de courts entrenœuds et était en quelque sorte atteinte de nanisme, s'était subitement allongée et les entrenœuds de la région accrue avaient une longueur normale.

2^o *Examen histologique et microchimique.* — L'examen microchimique des plantes expérimentales effectué avant la transplantation a montré que dans les feuilles les modifications sont de même ordre que celles signalées plus haut ; mais une fois que la plante eût été mise à l'abri du grand soleil, les grains d'amidon si abondants dans les feuilles ayant subi l'enroulement ont disparu petit à petit (1) et la quantité des substances tannoïdes et protéiques contenues dans ses vacuoles a diminué.

La pression osmotique a baissé également et l'acidité de la cellule s'est affaiblie.

Dans la portion de tige qui s'était formée avant la transplantation, les phénomènes de nécrose ont persisté et les composés pectiques se sont maintenus en place.

La partie de la tige, qui s'est accrue dans le local d'expérience, n'a été que faiblement touchée par la nécrose et ne contenait qu'une faible quantité de composés pectiques.

1. L'amidon, ne disparaît pas la nuit chez les plantes malades, tandis que, dans notre expérience, les plantes se trouvant en meilleure condition, peuvent partiellement l'utiliser.

On peut conclure de ces expériences que, contrairement à l'opinion de certains auteurs, l'abondance des grains d'amidon dans une feuille enroulée n'est pas une conséquence de la nécrose, puisque ces grains peuvent disparaître lorsque la plante malade est soumise à des conditions spéciaux.

Les voies libériennes ne sont pas toutes fermées ; si le passage est impossible par les tubes nécrosés, aucun obstacle n'est offert par les tubes criblés qui n'ont pas souffert.

RÉSUMÉ

Notre travail a eu surtout pour but de mettre en évidence les modifications cytopathologiques qui se produisent au cours de la maladie de l'enroulement chez la *Solanum tuberosum*. Cette étude, qui ne nous a pas permis de contrôler la présence d'un parasite dans les plantes atteintes, nous a amené à montrer que les cellules d'une plante malade, présentent, par rapport à celle d'une plante saine, tout un ensemble de modifications très remarquables et qui n'avaient jamais été signalées. Ces modifications sont, d'une manière générale, d'autant plus accentuées que les signes cliniques de la maladie sont eux-mêmes plus accentués.

A. — Modifications cytopathologiques générales.

1. — DIMENSION PLUS GRANDE DES CELLULES, DES NOYAUX ET DES VACUOLES

a) *Cellules*. — Des mensurations précises, effectuées comparativement sur les cellules des feuilles de la variété « Triumph » nous ont montré que les éléments du tissu

en palissade ont des dimensions moyennes de 120 μ sur 24 μ chez les plantes malades, tandis que chez les plantes saines, les dimensions moyennes sont de 80 μ sur 14 μ . Les cellules du tissu lacuneux chez les plantes malades ont en moyenne 34 μ . sur 32 μ . et seulement 25 μ . sur 24 μ chez les plantes saines.

b) *Noyau*. — Le noyau est toujours volumineux chez les plantes malades aussi bien dans les tiges que dans les feuilles ; dans les tiges, il ne se comporte pas de la même façon chez les plantes saines et chez les plantes malades, quand on le colore par l'éosinate de bleu de méthylène (méthode panoptique), le noyau des plantes malades se colore toujours en rouge et celui des plantes saines prend souvent une coloration bleue.

c) *Vacuoles*. — Les dimensions des vacuoles sont singulièrement accrues et leur contenu est beaucoup plus abondant chez les plantes malades que chez les plantes saines.

2. — MODIFICATION DES PHÉNOMÈNES SÉCRÉTOIRES

a) La teneur en protéine est toujours plus élevée chez les plantes malades. Nous nous en sommes assuré en utilisant comparativement sur des coupes de feuilles saines et de feuilles malades des réactifs très divers des substances protéiques.

b) La teneur en tannoïdes est considérablement augmentée chez les plantes malades. Dans les coupes fixées par la méthode de Regaud, on remarque que les vacuoles contiennent toujours d'abondants précipités granuleux, colorés en jaune par le bichromate, donc tannoïdiques, agglomérés en masses irrégulières. Ces faits ont été confirmés par l'emploi de nombreux réactifs spéciaux des tannoïdes.

Les tanins ne peuvent pas être extraits par les méthodes

ordinaires : ce fait donne à penser que les tannoïdes seraient peut-être combinés aux protéïdes des vacuoles sous forme de tannates insolubles de protéïne.

Par suite de cette abondance des matières tannoïdes, la réaction des vacuoles est acide : le pH vacuolaire des poils d'une plante malade est de 3, tandis qu'il est de 6 chez une plante saine, celui des cellules épidermiques est respectivement de 5 et de 6 et celui des cellules parenchymateuses de 5 et de 7.

c) *Modifications de la teneur en sucre.* — Les réactifs des sucres nous ont montré qu'il y avait une anormale accumulation de sucre chez les plantes malades, d'où augmentation de la pression osmotique.

d) *Modifications de la teneur en amidon.* — Les feuilles de plantes malades possèdent toujours une forte proportion d'amidon car (1) celui-ci semble rester dans les cellules et n'éprouver aucune migration.

e) *Modifications de la teneur en graisse.* — Les matières grasses, contenues dans le cytoplasme et les chloroplastes des cellules de feuilles malades, sont toujours en quantité considérable.

f) *Modifications de l'appareil chlorophyllien.* — La chlorophylle, chez les plantes malades, est insoluble dans l'alcool fort. C'est un phénomène curieux qui laisserait croire que ces pigments se trouvent dans des combinaisons spéciales, peut-être à plus grosses molécules que dans les feuilles saines. En outre, les chloroplastes des feuilles malades, présentent une coloration jaune verdâtre, bien différente de la teinte verte des plastes des individus sains.

L'appareil chlorophyllien paraît d'ailleurs profondément modifié par la maladie, car les chloroplastes s'altèrent

1. Au moins chez les plantes vivant en pleine lumière.

très facilement sous l'influence des milieux hypotoniques, ils sont donc beaucoup moins résistants que les chloroplastes des plantes saines. Enfin, l'abondance d'amidon et de sucre est peut-être en relation avec la modification des plastes.

B. — Lésions nécrotiques locales.

Les auteurs, qui ont jusqu'ici étudié la maladie de l'enroulement, ont poursuivi des recherches d'ordre purement anatomique et n'ont pas étudié les altérations du contenu cellulaire. Nos recherches, poursuivies au moyen des techniques cytologiques modernes, associées aux recherches anatomiques nous ont permis de compléter et de rectifier les résultats précédemment fournis sur l'évolution de la maladie.

L'étude cytologique, en particulier, nous a montré que la maladie débute non dans la membrane, mais dans le cytoplasme lui-même.

C'est au niveau du cytoplasme qu'apparaissent les premières altérations morbides. Plus tard, les substances nécrotiques s'infiltrant dans la membrane de la cellule en voie de nécrose, qui s'amincit et se contracte.

Les parois des cellules saines en contact avec la cellule malade réagissent en s'épaississant. Cet épaississement n'est pas, comme on l'a cru, localisé dans les angles externes des cellules, il affecte toutes les parties des membranes qui avoisinent le foyer nécrotique.

La maladie débute dans les tubes criblés lorsqu'ils sont jeunes et par conséquent encore riches en protoplasma ; elle provoque une exagération de la destruction de ces tubes et s'étend ensuite aux cellules voisines pour gagner parfois de proche en proche les cellules du péricycle et même de l'écorce.

Les cellules nécrosées, écrasées par suite de la compression exercée sur elle par les cellules voisines, se réduisent peu à peu et finalement on ne voit plus qu'une matière noire localisée dans un espace qui offre l'aspect d'un méat.

C. — Autres résultats.

a) ABSENCE DE PARASITES.

Les masses denses et les granulations qui s'observent dans les cellules et que l'on a prises pour des parasites ne sont autre chose que des matières albuminoïdes ou tannoïdes.

b) INFLUENCE DE LA LUMIÈRE.

Des plantes très atteintes, ayant végété à la lumière, ont été transportées dans un local, à l'ombre chauffé à 20-25°; au bout d'un mois de séjour, les feuilles primitivement enroulées sont devenues planes, et la tige qui, au début, n'avait que de courts entre-nœuds, s'est subitement allongée de sorte que les entre-nœuds de la région accrue sont devenus absolument normaux.

Les grains d'amidon abondants chez les plantes nécrosées disparaissent petit à petit quand ces plantes sont soustraites à l'action de la lumière, il y a également dans ce cas, diminution dans la teneur en tanin et protéide, accompagnée d'un abaissement de la pression osmotique et un affaiblissement de l'acidité.

L'accumulation des grains d'amidon n'est donc pas, ainsi que l'ont prétendu nos devanciers, causée par la nécrose de quelques tubes criblés, puisque ce corps peut disparaître chez une plante malade que l'on fait pousser dans des conditions particulières.

CONCLUSIONS

1. Les Pommes de terre atteintes de la maladie de l'enroulement présentent les modifications cytopathologiques suivantes :

a) Les cellules et certains des constituants cellulaires : noyaux et vacuoles, présentent des dimensions beaucoup plus élevées que chez les Pommes de terre saines ;

b) Les sucres, l'amidon, les tannoïdes, les protéines sont en beaucoup plus grandes quantités chez les individus malades que chez les individus sains. L'augmentation de la teneur en sucre entraîne un accroissement considérable de la pression osmotique, et l'augmentation de la teneur en tanins un accroissement de l'acidité vacuolaire.

Les tanins paraissent être combinés aux protéines sous forme de composés insolubles.

c) L'appareil chlorophyllien des plantes malades paraît être profondément modifié : en particulier, la chlorophylle des individus atteints de l'enroulement ne peut être extraite par l'alcool.

d) La nécrose dont certaines cellules sont frappées au cours de la maladie de l'enroulement, débute au niveau du cytoplasma ; elle ne s'étend aux membranes que secondairement.

BIBLIOGRAPHIE

- Appel und Schlumberger*. — 1911. Die Blattrollkrankheit und unsere Kartoffelernten. Arbeiten der deutschen Landwirtschaft Gesellschaft, Heft, 1911.
- Appel (Otto) und Schlumberger (Otto)*. — 1911. Die Blattrollkrankheit und unsere Kartoffelernten. Arb. der Deut. Landw. Gesell. Heft, 190, 102 p., 13 pl. (1 fold.) Literaturübersicht, p. 82-102.
- Appel und Kreitz*. — Der derzeitige Stand unserer Kenntnisse von den Kartoffelkrankheiten und ihrer Bekämpfung. Mitt. der Biolog. Anstalt Berlin-Dahlem, Heft 5, 1907.
- Artschwager (Ernst F.)*. — Histological studies on potato leaf-roll. Jour. Agr. Research 15, 559-570, pl. C, 35-45, 1918.
- 1918. Anatomy of the potato, with special reference to the ontogeny of the vascular system. In Jour. Agr. Research, v. 14, n° 6, p. 221-252, 4 fig. pl. 27-47, Literature cited p. 251-252.
 - 1921. Histological studies on potato leaf-roll. Journ. Agr. Res. Washington, december 1919.
 - 1922. Occurence of phloem necrosis in leaf roll tubers. Phytopath. XII, 4, pp. 193-194.
 - 1923. Occurence and significance of phloem necrosis in the Irish Potato. Journ. Agr. Res. XXIV, 3, pp. 237-245.
- Barnard (J.-E.)*. — The microscopical examination of filtrable viruses associated with malignant new growths (The Lancet, t. CCIX, pp. 117-123, 1925).
- Beauverie*. — 1926. Les modes de dégénérescence des chloroplastes particulièrement dans le parasitisme. Acad. des Sc. de Paris, juillet 1926.
- Bewley*. — Minute « organism » isolated from the virus of mosaic disease of Tomato (Nature, CXII, 1923).
- Blanchard et Perret*. — Recherches relatives à la maladie de

l'enroulement de la pomme de terre, effectuées dans le département de la Loire (Annales du Service des Epiphyties, 1918).

Blattny. — Studies of diseases of cultivated plants chiefly of the Potato, related the mosaic. (Zemedelsky Archiv. XV, 1924).

Blodget (F. M.). et Fernow (K.). — Testing seed potatoes for mosaic and leafroll (Phytopathology abstr., XL, p. 58, 1921).

Botjes (J.) Oortwyn. — Raising Phloem-necrosis and mosaic free potatoes, and a source of infection whose nature has not yet been elucidated. Phytopathology, Vol. 10, January 1920, n° 1.

Brehmer (V.). — 1923. Die anatomischen und mikroschemischen Veränderungen der Kartoffelleptoms (Report of the international Conference of Phytopathology. Hollande, 1923).

Campbell (E. G.). — 1925. Potato leaf-roll as affecting the carbohydrate, water and nitrogen content of the host. Phytopath., XV.

Combes (R.). — Recherches biochimiques expérimentales sur le rôle physiologique des glucosides (Rev. gén. Bot., t. XXIX et XXX, 1917-1918).

— La vie de la cellule végétale. Collection Armand Colin. Paris, 1927.

Cook. — Histology and cytology of sugar cane mosaic. Journ. dep. Agr. Porto Rico, IX, 1925.

— Some effects of mosaic on the content of the cell (Phytopath. abstr., Vol. XVII, 1927).

Cross. — 1895. Sur la constitution des matières pectiques. Berichte, 1895, p. 2609.

Doolittle and Gilbert. — 1919. Seed transmission of cucurbit mosaic by the wild cucumber. Phytopath., vol. IX.

Dubois (C.). — 1921. La sélection de la pomme de terre en Hollande (Office agricole régional de l'Ouest).

— 1921. Quelques conseils sur la sélection de la pomme de terre dans la lutte contre les maladies dites « de dégénérescence » (Office agricole régional de l'Ouest).

— 1921. Projet relatif à l'organisation départementale de la sélection de la pomme de terre par les Offices agricoles

départementaux de la région de l'Ouest (Office Agricole de l'Ouest).

- Ducomet.* — Recherche sur le développement de quelques champignons parasites à thalle subcuticulaire (Thèse 1907).
- 1924. Les principales maladies de la Pomme de terre. Les moyens de les prévenir. La Sélection. Conservation des tubercules (Office agricole).
- Les maladies de la Pomme de terre. Caractères auxquels on les reconnaît. Moyens de les combattre et de les prévenir (Office agricole, 1924).
- 1922. — Les maladies de dégénérescence de la Pomme de terre (Ann. des Ephiphyties, 1922, p. 27-93).
- Dufrenoy.* — Cytological studies of plant tissues affected with mosaic diseases (Phytopath. abstr., XVIII, 1928).
- Dufrenoy (J.).* — Condition d'hypotonie des cellules affectées par la mosaïque (C. R. de la Société de Biologie, 19 mai 1928).
- Le vacuome des cellules de canne à sucre affectées de mosaïque (C. R. de la Société de biologie, 7 juillet 1928).
- Duncan (M.).* — 1919. Insect. pests and plant diseases in the vegetable and fruit garden.
- Eichhorn (A.).* — La mesure du pH cytoplasmique dans les végétaux, les méthodes, les résultats (Bull. Hist. appli., mai 1927. Paris).
- Esmarch.* — 1919. Zur Kenntnis des Stoffwechsels in blattrollkranken Kartoffeln (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Band XXIV. Kartoffeln).
- 1920. Die Phloemnecrose der Kartoffel (Sonderabdruck aus den Berichten der Deutschen Botanischen Gesellschaft).
- Foex (E.).* — 1914. La maladie de l'enroulement des feuilles de la Pomme de terre dans le canton d'Orchies (Nord) (Bull. de la Soc. de Pathologie végétale de France, t. I, 1^{er} fasc.).
- Foex et Perret.* — La frisolée, la maladie de l'enroulement et quelques autres affections de la Pomme de terre (La Vie Agricole et Rurale, 3^e année, n^o 5, 3 janv. 1914).
- Foex.* — 1920. La nécrose du liber de la tige de la Pomme de terre atteinte de la maladie dite « de l'enroulement ». Académie des Sciences à Paris, Séance du 31 mai 1920.

- Foex*. — 1921. La maladie de l'enroulement de la Pomme de terre (Ann. des Epiphyties, t. VII p. 281-287).
- Folsom*. — Uniformity of nomenclature for the viruses of *Solanum tuberosum* (Phytopath., XVII, 1927).
- Franca (Lisbon)*. — 1920. La flagellose des Euphorbes. Annales de l'Inst. Pasteur, XXXIV, 4, 32 Paris.
- Guilliermond (Alexandre)*. — Sur les mitochondries des cellules végétales (C. R. Acad. Sc., 17 juillet, t. CLIII, p. 199, 1 fig. de texte, 1911).
- Sur la formation des chloroleucites aux dépens des mitochondries (C. R. Acad. Sc., 24 juillet 1911, t. CLIII, p. 290, 1 fig. de texte).
 - Sur l'origine des leucoplastes et sur les processus cyto-logiques de l'élaboration de l'amidon dans le tubercule de Pomme de Terre (C. R. Acad. Sc., 26 décembre 1911, t. CLIII, p. 1492).
 - Nouvelles remarques sur l'origine des chloroleucites (C. R. Soc. Biol., 20 janvier 1912, t. LXXII, p. 86).
 - Sur les leucoplastes de *Phajus grandifolius* et leur identification avec les mitochondries (C. R. Acad. Sc., 29 janvier 1912, t. CLIV, p. 186).
 - Quelques remarques nouvelles sur le mode de formation de l'amidon dans la cellule végétale (C. R. Soc. Biol., 17 février 1912, t. LXXII, p. 276, 1 fig. de texte).
 - Sur le mode de formation des chloroleucites dans les bourgeons des plantes adultes (C. R. Soc. Biol., 16 mars 1912, t. LXXII, p. 459, 7 planches).
 - Sur les mitochondries des organes sexuels des végétaux (C. R. Soc. Biol., 1^{er} avril 1912, t. CLIV, p. 888).
 - Mitochondries et plastes végétaux (C. R. Soc. Biol., 6 juillet 1912, t. LXXIII, p. 7).
 - Sur les différents modes de la formation des leucoplastes (C. R. Soc. Biol., 13 juillet 1912, t. LXXIII, p. 110).
 - Sur le mode de formation du pigment dans la racine de carotte (C. R. Acad. Sc., 5 août 1912, t. CLV, p. 411).
 - Recherches sur le mode de formation de l'amidon et sur les plastes des Végétaux (leuco-chloro-et chromoplastes). Contribution à l'étude des mitochondries dans les Végétaux (Arch. d'Anat. microsc., décembre 1912, t. XIV, p. 310 à 428, 11 fig. de texte et 6 planches).

- Guilliermond (Alexandre)*. — Sur l'étude vitale du chondriome de l'épiderme des pétales d'Iris germanica et de son évolution en leuco-et chromoplastes (C. R. Soc. Biol., 14 juin 1913, t. LXIV, p. 1280, 1 planche).
- Nouvelles remarques sur la signification des plastes de W. Schimper par rapport aux mitochondries actuelles (C. R. Soc. Biol., t. LXXV, p. 437, 1 fig. de texte, 1913).
 - Nouvelles observations vitales sur le chondriome des cellules épidermiques de la fleur d'Iris germanica. I. Elaboration d'amidon et de xanthophylle au sein des chondriocontes (C. R. Soc. Biol., 15 mai 1915, t. LXXVIII, p. 241, 1 planche).
 - Nouvelles observations vitales sur le chondriome des cellules épidermiques de la fleur d'Iris germanica. II. Production de globules graisseux au sein des mitochondries et des plastes. Fixation du chondriome (C. R. Soc. Biol., 15 mai, t. LXXVIII, 1 fig. de texte, 1915).
 - Sur une méthode permettant de colorer dans la cellule végétale les grains d'amidon au sein des mitochondries (C. R. Soc. Biol., 21 octobre 1916, t. LXXIX, p. 806, 1 fig. de texte).
 - Recherches sur l'origine des chromoplastes et le mode de formation des pigments du groupe des xanthophylles et des carotines (C. R. Acad. Sc., 29 janvier 1917, t. CLXIV, p. 232).
 - Observations vitales sur le chondriome de la fleur de Tulipe (C. R. Acad. Sc., 5 mars 1917, t. CLXIV, p. 407).
Sur les altérations et les caractères du chondriome dans les cellules épidermiques de la fleur de Tulipe (C. R. Acad. Sc., 16 avril 1917, t. CLXIV, p. 609).
 - Contribution à l'étude de la fixation du cytoplasme (R. C. Ac. Sc., 23 avril 1917, t. CLXIV, p. 643).
 - Nouvelles recherches sur les caractères vitaux et les altérations du chondriome dans les cellules épidermiques des fleurs (Mém. Soc. Biol., 30 juin 1917, t. LXXX, p. 644 à 650, 2 planches).
 - Sur les phénomènes cytologiques de la dégénérescence des cellules épidermiques pendant la fanaison des fleurs (C. R. Soc. Biol., 28 juillet 1917, t. LXXX, p. 726-729, 1 planche).

- Guilliermond (Alexandre)*. — Sur la plasmolyse des cellules épidermiques de la feuille d'Iris germanica (C. R. Acad. Sc., 4 février, t. CLXVI, p. 222, 1918).
- Sur la plasmolyse des cellules épidermiques des pétales de Tulipe (C. R. Soc. Biol., 27 avril 1918, t. LXXXI, p. 427 à 431, 1 planche).
 - Sur la nature et la signification du chondriome (C. R. Acad. Sc., 22 avril 1918, t. LXVI, p. 649).
 - Mitochondries et système vasculaire (C. R. Acad. Sc., 27 mai 1918, t. CLXVI, p. 862).
 - Sur la métachromatine et les composés phénoliques de la cellule végétale (C. R. Acad. Sc., 10 juin 1918, t. CLXVI, p. 958).
 - Sur la signification du chondriome (Rev. Gén. Bot., t. XXX, p. 161 à 177, 13 planches).
 - Sur l'origine mitochondriale des plastides (C. R. Acad. Sc., t. CLXVII, p. 430, 1918).
 - Mitochondries et symbiotes (C. R. Soc. Biol., 29 mars, t. LXXXII, p. 309 à 312, 1919).
 - Sur l'origine mitochondriale des plastides. A propos d'un travail de Mottier (Ann. Sc. Nat. Bot., 10^e série, t. XIV, p. 226 à 246, 10 fig. de texte, 5 planches, 1919).
 - Observations vitales sur le chondriome des végétaux et recherches sur l'origine des chromoplastides et le mode de formation des pigments xanthophylliens et carotiniens. Contribution à l'étude physiologique de la cellule (Rev. Gén. Bot., t. XXXI, p. 372 à 683, 35 figures de texte et 45 pl., 1919).
 - Sur l'évolution du chondriome dans la cellule végétale (C. R. Acad. Sc., 19 janvier 1920, t. CLXX, p. 194, 1 fig. de texte).
 - Sur les éléments figurés du cytoplasme (C. R. Acad. Sc., 8 mars 1920, t. CLXX, p. 613, 1 fig. de texte).
 - Sur l'origine des vacuoles dans les cellules de quelques racines (C. R. Soc. Biol., 27 mars 1920, t. LXXXIII, p. 411, 1 planche).
 - Sur la coexistence dans la cellule végétale de deux variétés distinctes de mitochondries (C. R. Soc. Biol., 27 mars 1920, t. LXXXIII, p. 408, 1 planche).

- Guilliermond (Alexandre)*. — Sur la structure de la cellule végétale (C. R. Acad. Sc., 21 juin 1920, t. CLXX, p. 1515).
- Nouvelles remarques sur la coexistence de deux variétés de mitochondries dans les végétaux chlorophylliens (C. R. Soc. Biol., 10 juillet, t. LXXXIII, p. 1046, 1 planche, 1920).
 - Nouvelles recherches sur l'appareil vacuolaire dans les végétaux (C. R. Acad. Sc., t. CLXXI, p. 1071, 1 planche, 1920).
 - Caractères différentiels de l'appareil vacuolaire et du chondriome dans la cellule végétale (C. R. Soc. Biol., t. CXXXIII, p. 1435, 1 planche, 1920).
 - A propos de la constitution morphologique du cytoplasme (C. R. Acad. Sc., 10 janvier 1921, t. CLXXII, p. 121, 1 fig. de texte).
 - A propos d'un travail de Meves sur le chondriome de la cellule végétale (C. R. Soc. Biol., 17 janvier 1921, t. LXXXIV, p. 202, 1 pl.).
 - Sur les caractères de l'évolution du chondriome dans les végétaux chlorophylliens (C. R. Soc. Biol., 17 janvier 1921, t. LXXXIV, p. 197, 1 planche).
 - La constitution morphologique du cytoplasme dans la cellule végétale (Rev. Gén. Sc. pures et appl., 15 mars 1921, 32^e année, n^o 5, p. 133 à 140, 4 fig. dans le texte).
 - Les constituants morphologiques du cytoplasme, d'après les recherches récentes de Cytologie végétale (Bull. biol. France et Belgique, t. LIV, p. 466 à 512, 24 fig. de texte).
 - Sur les microsomes et les formations lipoïdes de la cellule végétale (C. R. Acad. Sc., 27 juin 1921, t. CLXXII, p. 1676).
 - Sur la formation des chloroplastes dans l'*Elodea canadensis* (C. R. Soc. Biol., 4 juillet 1921, t. LXXXV, p. 462, 1 pl.).
 - Nouvelles observations sur l'origine des plastides dans les Phanérogames (Rev. Gén. Bot., t. XXXIII, p. 402, 10 planches, 1921).
 - Observations cytologiques sur le bourgeon d'*Elodea*

canadensis (C. R. Acad. Sc., 1^{er} août 1921, t. CLXXIII, p. 331).

- Guilliermond (Alexandre)*. — Origine et évolution du système vacuolaire des cellules végétales et grains d'aleurone (C. R. Soc. Biol., t. LXXXV, p. 1033, 1 planche, 1922).
- Sur la signification de l'appareil réticulaire de Golgi (C. R. Acad. Sc., t. CXXXIV, p. 485, 1 fig., 1922, en collaboration avec Mangenot).
 - Sur la formation des grains d'aleurone et de l'huile dans l'albumen de Ricin (C. R. Soc. Biol., t. LXXXVI, p. 434, 1 fig. 1922).
 - Sur l'origine et la signification des oléoplastes (C. R. Soc. Biol., t. LXXXVI, p. 437, 1 fig., 1922).
 - Sur la coloration vitale des chondriosomes (C. R. Soc. Biol., t. LXXXIV p. 527, 1923).
 - Les chondriosomes dans la cellule végétale. Etat actuel de nos connaissances sur la structure de la cellule (C. R. Assoc. Réunion de Lyon, pp. 15 à 39, 6 fig. de texte, 1923).
 - Nouvelles recherches sur les constituants morphologiques de la cellule végétale (Arch. d'Anat. microsc. t. XX, p. 210, 15 planches dont 2 colorées et 26 fig. de texte).
 - Sur l'instabilité de forme et la permanence des mitochondries (C. R. Acad. Sc., t. CLXXX, 1 figure, 1925).
 - La structure de la cellule végétale (Jubilé de Mendel. Prague, p. 146-160, 6 fig. de texte, 1925).
 - Le vacuome de la cellule végétale (Bull. Hist. appl., t. II p. 18, 5 fig. de texte, 1925).
 - Sur les relations du système vacuolaire avec l'appareil de Golgi dans les végétaux (C. R. Acad. Sc., t. CLXXXII, p. 485, 1926).
 - Sur l'action des méthodes à imprégnation argentique sur les cellules végétales et sur les relations du vacuome et de l'appareil de Golgi (C. R. Acad. Sc., t. CLXXXII, p. 714, 1926).
 - Appareil de Golgi et canalicules de Holmgren dans la plantule de Pois et leur assimilation aux grains d'aleurone et au vacuome (C. R. Biol., t. XCIV, p. 993, 1 planche, 1926).
 - Sur l'action des méthodes à imprégnation osmique sur

les cellules végétales. Nouvelle contribution à l'étude de l'appareil de Golgi (C. R. Soc. Biol., t. XCV, p. 442, 1 fig). 1926).

Guilliermond (Alexandre). — Sur l'origine des vacuoles (La cellule, t. XXXVI, p. 217-229, 3 planches colorées, 1926).

— Revue des travaux de cytologie parus de 1910 à 1925 (Rev. Gén. Bot., t. XXXVIII, XXXIX, 230 pages. En collaboration avec Mangenot, 1926).

— Sur la réversibilité de forme du vacuome observée sous l'influence de la plasmolyse (C. R. de l'A. F. A. S. Congrès de Lyon, p. 375-379, 1 fig. de texte, 1926).

— Observations vitales sur l'instabilité de forme des mitochondries et sur leur permanence (Bull. biol. France et Belgique, t. LXI, fasc. 1, 24 pages, 10 fig. de texte, 1927).

— Recherches sur l'appareil de Golgi et ses relations avec le vacuome (Arch. d'Anat. microsc., t. XXIII, 98 pages, 12 fig. de texte, 11 planches dont 2 colorées, 1927).

— Sur l'action du rouge neutre sur les cellules végétales et sur la coloration du vacuome (Bull. d'Hist. appli. à la Phys. et à la Pathol., t. IV, 9 pages, 5 fig. de texte, 1927).

— Le chondriome de la cellule végétale. A propos d'un article récent de M. Pavillard (Arch. Bot. Bull. mensuel, n° 8-9, 1927).

— A propos des recherches récentes de M. Bowen sur l'appareil de Golgi (C. R. Acad. Sc., t. XCVIII, p. 368, 1928).

— La cellule végétale. Encyclopédie scientifique. Douin, édit. Sous presse, 1928.

— Etat actuel de la question du vacuome. Sous presse, 1928.

Kasai. — Investigations on the Nelson's bodies as observed in the Leafroll, mosaic and healthy plants. (Ber. Chara Inst. Landw. Forsch 11, 1924).

Kenneth (M). *Schmith (M.Sc.)*. — On a curious effect of Mosaic disease upon the cells of the Potato leaf. (The University Manchester) Annals of Botany vol. XXXVIII n° Cl. Avril 1924).

Kinney (Mc) *HH*. *Eckerson S.H.*, et *R. W. Webb*. — Intracellular bodies associated with a mosaic of *Hippeastrum Johnsonii* (Phytopath., v. 13, p. 41, 47, 1923).

Kofroid, *Severin* et *Swezy*. — Nelson's spiral bodies in Tomato mosaic not Protozoa. (Phytop., VIII, 1923).

- Küster (Ernst)*. — 1916. 6 Pathologische Pflanzenanatomie ..
Aufl., 2447 p. illustr. Jena.
- Lacey*. — Protozoa and virus diseases of plants (Nature, CXII,
1923).
- Lutz*. — 1895. Contribution à l'étude chimique et botanique des
gommes. Thèse, 1895.
- Henderson (H.)*, *Smith (M. B.)*. — Recent work on Virus Di-
seases in Plants 1927 (Rothamsted Experimental Sta-
tion) (Reprinted from the Proceedings of the Royal
Society of Medicine, 1927, vol. XX, section of Path.,
pp. 1-18).
- Himmelbaur*. — 1912. Oesterr. Ung. Zeitschr. f. Zuckerindustrie
und Landwirtsch, XLI, Heft 5, und 6.
- 1921. Die Fusariumblattrollkrankheit der Kartoffel, Oest
Ung. Zeitsch. f. Zuckerind. u. Landw., XLI, Heft 5, und 6.
- Johnson*. — A virus from Potato transmissible to Tabacco (Phy-
topath., t. XVI, p. 46, 1925).
- Transmission of viruses from apparently healthy Pota-
toes (Wisconsin exp. Res. Stat., t. LXIII, 1925).
- The classification of plant viruses (Wisc. Agr. Exp. St.
Res. Bull., 1927).
- Further studies on the attenuation of plant viruses
(Phytop. abstr., Vol. XVIII, 1928).
- Malpeaux*. — Pour éviter la dégénérescence des Pommes de terre
choix, préparation et conservation des tubercules de
semence (La Vie Agricole et rurale, 21 décembre 1918).
- Méthodes spéciales pour la multiplication intensive de
la Pomme de terre (La Vie Agricole et rurale, 5 avril
1919).
- Mangenot (G.)*. — Sur les mitochondries dans les cellules ani-
males et végétales (avec Emberger) (C. R. Soc. Biol.,
mars 1920).
- Etat actuel de la question du chondriome (Bull. Hist.
Appl. à la Physiol., 1926).
- Mangin*. — 1893. Recherches anatomiques sur les composés pec-
tiques (Journ. de bot., 1893).
- Massée (G.)*. — 1906. Perpetuation of « Potato disease » and
Potato « Leaf curl » by means of hybernation mycelium
(Kew Bull., 1906, pp. 242-245).

- 1895. Thé « Spot » disease of Orchids (Ann. of Botany, IX, n° 35, 1895).
- Mirande*. — 1920. Sur le carmin aluné et son emploi combiné avec celui du vert d'iode en histologie végétale. C. R., t. 170, p. 197.
- Molliard (M.)*. — Nutrition de la plante (Gaston Doin et Cie, éditeur à Paris).
- Mottet*. — Choix et conservation des plants de Pommes de terre (Jour. Agric. pratique, n° 6, 21 mars 1918).
- La dégénérescence des Pommes de terre (Journ. Agric. pratique 1918 n° 17, 22 août 1918).
- Choix de plantes destinées à fournir des plants de Pomme de terre (Journ. Agric. pratique 1919, n° 26, 31 juillet 1919).
- Régénérescence de la Pomme de terre par le semis (Journ. Agric. pratique, n° 41, 13 nov. 1917).
- Murphy, (Paul A.) and Wortley (E.-J.)*. — Determination of the factors inducing leaf roll and potatoes particularly in northern climates. First progress report (Phytopath., 8, 150-154, fig. 1, 1918).
- Murphy (P.-A.)*. — Investigations on the leaf-roll and mosaic diseases of the Potato (Journ. Dept. Agr. Tech. Indr. Ireland, XXII, 1, pp. 20-34, 1923).
- 1923. On the cause of rolling in Potato foliage and on some further insect carriers of the leaf-roll disease. (Scient. Proc. Royal Dublin Soc. XVII (N. S.) 20-24, pp. 163-184).
- Nelson*. — The occurrence of protozoa in plants affected with mosaic and related diseases (Mich. Agr. Exp. Stat. Techn. Bull., LVIII, 1922).
- Nishimura*. — 1918. A carrier of the mosaic disease. Contribution from the Dep. of Botany of Columbia University.
- Oortwijn Botjes*. — 1920. De bladrolziekte van de Aardappelplant. Thesis accepted by the Landbouwhoogeschool. Wageningen.
- Oortwijn Botjes*. — 1920. De Bladrolziekte van de Aardappelplant; proefschrifter verkrijging van den graad van doctor in de Landbouwkunde aan de Landbouwhoogeschool te Wageningen.

- Orton*. — 1909. Cir. n° 23 U. S. Dept. of Agr. Bureau of Plant Industry.
- 1914. Potato wilt, leafroll and related diseases (Journal of the Dep. of Agri., n° 64).
- Orton* (W. A.). — 1914. Potato wilt, leaf roll and related diseases. (U. S. Dept Agr. Bul., 64, 48 p., 16 pl. Bibliography, p. 44-48).
- U. S. Dep. Agr. Bull. 64, p. 48, 1924.
- Potato wilt leaf roll and related diseases (U. S. Dept. Agr. Bull., 64, 48 p., 16 pl., 1914).
- Reiss* (Paul). — Le pH intérieur cellulaire (Presses Universitaires de France, Paris).
- Parat* (M.). — Article du pH interne de la cellule animale dans « Chimie Physiologique de la peau » A. Legrand, Paris, 1928.
- Parisot*. — Recherches sur la filiosité de la Pomme de terre (Annales de l'Ecole nationale d'Agriculture de Rennes, t. IV, 1910).
- Perret*. — Comment augmenter le rendement de la Pomme de terre (La Vie Agricole et Rurale, 9 août 1919).
- Perret* C.). — 1921. Recherches sur la dégénérescence de la pomme de terre (Ann. des Epiphyties, 1923, pp. 61-69).
- Quanjer*. — Nekrose des Phloems der Kartoffelpflanze, die Ursache der Blattrollkrankheit. Vagenijgen, 1913.
- Nature, mode of dissemination and control of phloem necrosis (leaf-roll) and related diseases i. a. sereh. Wageningen, 1916.
- Recherches sur la leptonécrose de la Pomme de terre (Annales de la Science agronomique, n° 7, 9, 10-12, 1917).
- Sur la fonction du tissu criblé. In Medrel Wageningen. Landbouwhoogeschool 16 ; 95-104 fig. 3, 4 et 5, 1904).
- The Mosaic diseases of the Solanaceae, its relation to the Phloem necrosis and this effect upon potato culture (Phytopathology, vol. 10, n° 1, January, 1920).
- Quanjer*. — 1917. Jahresbericht für angewandte Botanik.
- 1919. Sur la fonction du tissu criblé (Mededeelingen van de Landbouwhoogeschool, deel XVI)
- Quanjer, Dorst, Dyt, and Van Der Haar*. — 1919 The mosaic disease of the Solanaceae, its relation to phloem-necro-

- sis and its effect on potato culture (Dededeelingen van Landbouwhoogeschool, dt. XVII, p. 1. Wageningen).
- Quanjer v.d. Lek en Oortwijn Botjes.* — Aard veespreidingswijze en Bestrijding van Phloemnecrose (bladrol) en verwante verschijnselen, o. a. sereh.
- Quanjer, Dorst, Dijt, en v. a. Haar.* — 1919. De mozaiekiezakte van de Solanaceeën, hare verwantschap met de phloemnecrose en hare beteekenis voor de aardappelcultuur.
- Rand.* — Pecan osette : its histology, cytology and relations to other chlorotic diseases (U.S. Dep. Agr. Bull., 1922).
- Reddick nad Stewart.* — Transmission of the virus of bean mosaic in seed and observations in thermal death point of seed and virus (Phytopathology, vol. IX.)
- Schander et Tiesenhausen.* — Mitteilungen d. Kais. Wilh. Inst. für Landwirtsch. Bromberg, VI, p. 115, 1914.
- Schander (R.) and Tiesenhausen (M. V.).* — 1914. Kann man die Phloemnekrose als Ursache oder Symptom der Blattrollkrankheit der Kartoffel ansehen ? (Abstract in Ztschr. Pflanzenkr. Bd 25, Heft 1, p. 16-18 1925) (Original article in Mtt. Kaiser Wilhelm Institut Landw. Bromberg, Bd 6, Heft 2, p. 115-124, 4 fig., 1914).
- Schultz, Folsom, Hildebrandt and Hawkins.* — 1919. Investigations on the mosaic disease of the Irish potato (Journal of Agr. Research, XVII, p. 247. Washington.
- Schultz and Folsom.* — 1920. Transmission of the mosaic disease of Irish potatoes (Journal of Agricultural Research, XIX p. 315. Washington).
- 1921. Leaf-roll, the necrosis and spindling-sprout of the Irish potato (Journal of Agr. research., p. 47, Washington).
- Schultz et Folsom.* — Infection and dissemination experiments with degeneration diseases of Potatoes. Observations in 1923 (Journ. Agr. Rec., XXX, 1925).
- Sorauer.* — Die Fodenbildung der Kartoffeln (Filosité) Handbuch der Pflanzen Krankheiten. Erster Bd, S., 159.
- Spieckermann.* — 1910. Beiträge zur Kenntnis der Bacterien. Ring und Blattrollkrankheit der Kartoffel. Jahresbericht der Ver. f. angew. Botanik, VIII.
- 1913. Landwirtsch. Zeitung, 17 sept.

- Stormer*. — 1911. Abbau und Wiederauffrischung von Kartoffel-sorten durch Bodeneinfluss (Illustr. landw. Zeitung, 1911, n° 19).
- 1911. Kartoffelverwertung, N° 7, 9 u. 10.
- Tsen Cheng*. — Sur les modifications histopathologiques contractées chez la Pomme de Terre (*Solanum tuberosum*) atteinte de dégénérescence (Maladie de l'enroulement (C. R. Ac. Sc., 1928).
- Sur les phénomènes de nécrose observés dans la Pomme de Terre atteinte d'enroulement (C. R. Ac. Sc. 1928).
- L'action perturbatrice de la centrifugation sur la structure cellulaire. C. R. au Congrès de Lyon 1926, de l'A. F. A. S.
- Gross et Bevan*. — 1895-1910. Recherches sur la cellulose, 1895. 1910. Paris, 1914-1917.
- Verplancke (G.)*. — De la valeur de la « Tuber testing method » dans la sélection sanitaire de la Pomme de terre (Annales de Gembloux, 33^e année, sept. 1927).
- A propos des maladies de dégénérescence de la Pomme de terre (Annales de Gembloux, 33^e année, décembre 1927).
- Quelques données nouvelles sur les maladies à virus filtrants (Annales de Gembloux. 34^e année, avril 1928).
- War Emergency Board American Plant Pathologist Report of the Conference on diseases Potatoes and Seed certification*. August 16-17, 1918.
- War Emergency Board American Plant Pathologist Final Report*, december 31, 1918.
- Wortley*. — Potato leaf-roll, its diagnose and cause (Phytopathology, 8, 507-529).
- Wortley (E.-J.)*. — Potato leaf roll : its diagnosis and cause. Phytopath. 8 : 507-529, fig. 16, 1918.

EXPLICATIONS DES PLANCHES

PLANCHE I

FIG. I

Coupe transversale de la région libérienne d'une plante malade traitée par la méthode de Regaud : I. Début de la maladie dans le cytoplasma qui commence à se transformer. La membrane s'amincit et se contracte légèrement ; II: Les substances nécrotiques issues de la cellule malade ont fusé dans les espaces intercellulaires et les méats (m) : la portion des membranes des cellules avoisinantes imprégnées par les substances nécrotiques s'est considérablement épaissie (III, IV, V, VI) la présence des cellules nécrosées n'est marquée que par une masse granuleuse (sn) qui paraît être contenue dans une sorte de méat (VII).

En VIII, IX et X sont figurés des exemples où des membranes de cellules éloignées des foyers de contagion s'épaississent par suite de l'infiltration des substances nécrotiques (sn) qui sont arrivées jusqu'à elles par des espaces intercellulaires ou des méats.

PLANCHE II

FIG. I

Coupe transversale de la région libérienne d'une plante malade traitée par la méthode de Regaud (le contenu des cellules saines n'a pas été figuré).

Le contenu de cellules en voie de nécrose (sn) se transforme peu à peu et finit par former une masse dense qui ne permet plus de reconnaître les limites de la cellule nécrosée ; les membranes des cellules en voie de nécrose se contractent et s'amincissent tandis que les membranes des cellules voisines subissent une sorte d'étirement et ne s'épaississent pas parce que les substances nécrotiques n'ont pas encore fusé à leur intérieur (p. s.n.). Passage des substances nécro-

tiques dans la couche moyenne de membranes qui commencent à s'épaissir.

FIG. 2

La nécrose qui a débuté dans un tube criblé du liber primaire s'est étendue d'une part dans les cellules péricyclique et corticales (difficiles à différencier les unes des autres dans un type adulte) et d'autre part dans le parenchyme libérien (ec.) écorce (li.) liber.

FIG. 3

Modification déterminée dans les parois des cellules de parenchyme p.) avoisinant un vaisseau (v.) en voie de disparition.

PLANCHE III

FIG. 1

Coupe transversale du liber interne traitée par la méthode de Regaud et surcolorée par une solution concentrée d'iode ioduré.
1. Cellules contractées renfermant des matières albuminoïdes et tannoïdes et contenant encore quelques grains d'amidon très réduits.
2. Cellules complètement contractées dans lesquelles les substances nécrotiques constituent une masse dense. Les parois épaissies des cellules qui entourent les éléments nécrosés sont lignifiées par place (pl.) restes d'une plaque criblée (co).

FIG. 2

Coupe transversale du liber d'une tige de plante malade fixée par l'alcool et colorée par le rouge de ruthenium : aspect d'une cellule observée à un très fort grossissement. La membrane de la cellule nécrosée (1) s'est considérablement amincie et s'est séparée des membranes des cellules voisines : il s'est ainsi produit un décollement très prononcé (2).

Le cytoplasma est aggloméré par les substances albuminoïdes et tannoïdes (3).

Les parois des cellules de pourtour (4) sont fortement épaissies et se colorent en rouge. Elles ont une apparence feuilletée due à l'alternance des portions lignifiées et de celles constituées par des composés pectiques. La couche (5) la plus externe des membranes reste incolore ce qui indique qu'elle ne renferme pas de composés pectiques.

FIG. 3

Coupe transversale de la tige d'une plante à feuille enroulée fixée par l'alcool et non colorée.

Les cellules nécrosées contiennent de grosses masses (g. n. m.)

jaunes ou noires et des granulations (g. n. g.) jaunes qui résultent de la coagulation du contenu cellulaire ; elles présentent à la fois les réactions des tannoïdes et des albuminoïdes ; ce sont par conséquent des tannates d'albuminoïdes (insolubles dans l'alcool).

Le contenu des cellules voisines des éléments nécrosés est formé également de matières coagulées qui englobent le noyau et les plastas.

FIG. 5

Coupe transversale du liber de tige âgée de Kerrswite enroulée fixée par la méthode de Regaud avec coloration ; la teneur en tanin des cellules âgées a diminué par suite du lavage à l'eau et la déshydratation par l'alcool. Les cellules qui entourent le foyer nécrotique se sont étirées radialement, leur contenu est partiellement coagulé ; le noyau est presque partout appliqué contre la membrane.

Les cellules nécrosées ne contiennent plus qu'une masse informe.

PLANCHE IV

Cellules de jeunes bourgeons issus de tubercules de plantes saines et de plantes malades traitées par la méthode de Regaud.

Cellules de plante saine. Fig. 1 à Fig. 7. Evolution de chondriome dans une cellule saine et formation des grains d'amidon.

Le système vacuolaire ne contient que quelques traces de composés phénoliques.

Cellules de plantes malades.

Les cellules de plantes malades au début de leur évolution ont une organisation identique à celle que présentent les cellules des plantes saines (figurées en 1 et 2).

Plus tard, leurs vacuoles augmentent de dimensions et se chargent de substances vacuolaires dont la quantité augmente progressivement avec l'âge (fig. 3 bis, 4 bis, 5 bis, 6 bis, fig. 8).

Dans la plupart des cellules, à un certain stade, les substances tannoïdiques et protéiques remplissent presque complètement la cavité cellulaire. Les grains d'amidon (A) sont énormément gonflés, on y voit encore quelques grains d'amidon de dimensions absolument anormales (fig. 7 bis).

PLANCHE V

FIG. 2

Cellule de parenchyme d'une très jeune feuille de plante saine traitée par la méthode de Regaud. m. mitochondries granuleuses. ch. chondriocontes. v. vacuoles N. noyau.

FIG. 2 bis

Cellule de parenchyme d'une jeune feuille de pousse de tubercule de plante malade. m. Mitochondries. ch. chondriocontes v. vacuoles de grande dimension contenant un abondant précipité (p).

FIG. 3

Cellule de parenchyme d'une jeune feuille de plante saine traitée par la méthode de Regaud. m. Mitochondries granuleuses. ch. Chondriocontes évoluant en chloroplastes avec grain d'amidon en formation. v. Vacuoles avec rares composés phénoliques.

FIG. 3 bis

Cellules de parenchyme d'une feuille de pousse née sur un tubercule de plante malade. La vacuole s'est considérablement agrandie et renferme un précipité beaucoup plus abondant qu'à l'état figuré en 2 bis.

FIG. 4

Cellule de parenchyme de feuille adulte saine. Beaucoup de chondriocontes sont complètement transformés en chloroplastes. Les vacuoles, de petite taille, ne contiennent qu'une très petite quantité de composés phénoliques.

FIG. 4 bis

Cellule du parenchyme de feuille adulte née sur des tiges provenant de tubercules de plantes malades. Vacuole occupant une grande partie de la cavité cellulaire et remplie de matières tannoïdes et albuminoïdes.

Les cellules parenchymateuses de feuilles, figurées en 2 bis, 3 bis et 4 bis sont dans toutes leurs proportions plus grandes que celles figurées en 2, 3 et 4.

FIG. 5

1. Chloroplastes de feuilles saines et de feuilles de plantes issues de tubercules de plantes malades mais n'offrant pas encore le symptôme de la maladie (traités par la méthode de Regaud), ces chloroplastes renferment un petit grain d'amidon et sont entourés de mitochondries non plastogènes. 2 à 4, destruction progressive des chloroplastes au cours de l'évolution de la maladie et modification des

grains d'amidon dont les dimensions vont sans cesse en s'accroissant jusqu'à ce qu'il y ait rupture du chloroplaste.

5. Chloroplaste gonflé par suite de la dilatation des grains d'amidon. 6 et 7, grains d'amidon, autour desquels a persisté un peu de chlorophylle.

PLANCHE VI

FIG. 1

Coupe de feuille enroulée de Triumph, malade depuis deux générations, traitée par la méthode de Regaud.

Les cellules épidermiques (c. p) sont bourrées de substances tannoïques et protéïques agglomérées en masses compactes. Dans les cellules de parenchyme, ces substances se présentent sous forme de globules ou de granulations qui remplissent de grandes vacuoles; elles abondent surtout dans les cellules du tissu lacuneux en contact, avec l'épiderme inférieur. Les noyaux des cellules sont volumineux; les chloroplastes sont fortement gonflés et renferment de nombreux grains d'amidon de grande dimension (m. mitochondrie non plasmogène).

FIG. 1 bis

Coupe de feuille saine de Triumph traitée par la méthode de Regaud. Les cellules épidermiques (cp) ne contiennent qu'une très faible quantité de substances phénoliques; les cellules de parenchyme sont plus petites que chez les plantes malades; leur noyau est également moins volumineux. La vacuole plus petite ne renferme qu'une petite quantité de composés phénoliques. Les chloroplastes très nombreux possèdent tous 1-2 petits grains d'amidon.

FIG. 2

Coupe de feuille enroulée de la variété Kerrswihte atteinte de la maladie depuis la 3^e génération fixée par la méthode de Bouin et colorée par l'hématoxyline. Le cytoplasma des cellules épidermiques a un aspect spongieux et contient de nombreuses granulations protéïques (gp). Le noyau (N) est bien visible. Les substances tannoïques disparaissent quand on emploie ce fixateur.

Dans les cellules parenchymateuses les matières protéïques des vacuoles sont précipitées et affectent des formes variées (p. v.).

Le cytoplasma, renferme souvent des cristalloïdes de forme cubique (c.) et de nombreuses granulations protéïques (g. p.).

FIG. 2 bis

Coupe de feuille saine de la même variété, traitée par la même méthode; le cytoplasma des cellules épidermiques est contracté en une

petite masse centrale. Dans les cellules de parenchyme, le cytoplasma est également contracté. Les chloroplastes sont plus ou moins altérés par le fixateur. Les noyaux sont peu volumineux.

PLANCHE VII

FIG. 1

Coupes fraîches montées dans une solution isotonique.

1. Chloroplaste sain d'une belle coloration verte contenant un ou deux petits grains d'amidon.

2-6. Multiplication des grains d'amidon qui subissent une véritable hypertrophie.

6-7. Chloroplastes dilatés par suite du gonflement des grains d'amidon.

9-11. Grains d'amidon portant des parcelles de chlorophylle. Les chloroplastes renferment de nombreux globules graisseux.

12-13. Chloroplastes de feuilles enroulées ayant séjourné dans l'alcool absolu pendant 24 heures; la chlorophylle n'est que partiellement dissoute et se montre sous forme de particules jaune-verdâtre qui semblent condensées dans un milieu plus clair (les chloroplastes de plantes saines se décolorent complètement lorsqu'ils sont traités par l'alcool).

FIG. 2

Coupe dans une feuille enroulée de Kerrswhite fixée par la méthode de Schaudinn et colorée par la fuschine acide.

Les cellules épidermiques sont remplies de substances protéiques formant une sorte de réseau. Les cellules parenchymateuses renferment des cristalloïdes, les uns de grande dimension (gc) les autres au contraire très petits (p. c.).

FIG. 3

Coupe dans un bourgeon issu d'un tubercule provenant d'une plante très malade.

Les coupes ont été traitées par la méthode de Regaud.

Dans les cellules jeunes (1) les vacuoles renferment déjà de nombreuses granulations colorées en jaune ou en noir. Ces granulations augmentent avec l'âge (2) et finissent par remplir presque toute la cavité cellulaire (3).

A. grains d'amidon. m. mitochondries non plastogène.

FIG. 4

Coupe dans le périoderme d'un tubercule de plante très malade examiné à l'état frais : les cellules renferment de nombreuses granulations plus ou moins agglomérées de coloration brun-jaunâtre.

FIG. 5

Coupe identique à la précédente, mais traitée par la méthode Meves-Küll.

Les masses granuleuses se sont décomposées en parcelles colorées en rouge ou en noir selon qu'elles sont de nature protéique ou tannoïde.

FIG. 6

Coupe transversale d'une feuille très enroulée de Kerrswite atteinte de la maladie depuis trois générations fixée par la méthode de Regaud et colorée par la fuschine acide. Les matières tannoïdes colorées en jaune remplissent les cellules du tissu lacuneux ; dans le tissu en palissade, ces matières sont un peu moins abondantes. Les chloroplastes et l'amidon se voient encore dans les cellules du tissu en palissade, mais ils ont presque entièrement disparu dans les cellules du tissu lacuneux où le tanin est en grande quantité.

Les agglomérations de matières tannoïdes renferment des petites inclusions liquides (gm).

FIG. 7

Coupe transversale d'une feuille très enroulée de Kerrswite atteinte de la maladie depuis trois générations traitée par la méthode de Meves-Küll.

Les matières tannoïdes ont précipité sous forme de grains de coloration noirâtre, tandis que les matières grasses et les huiles ont pris une teinte noir-foncé.

Les globules graisseux sont inclus dans les chloroplastes, tandis que les gouttelettes d'huile sont renfermées dans le cytoplasma.

N. noyau, A. amidon, g.h. gouttelette d'huile, g.g. globules graisseux, T. tannin.

PLANCHES

PLANCHE I

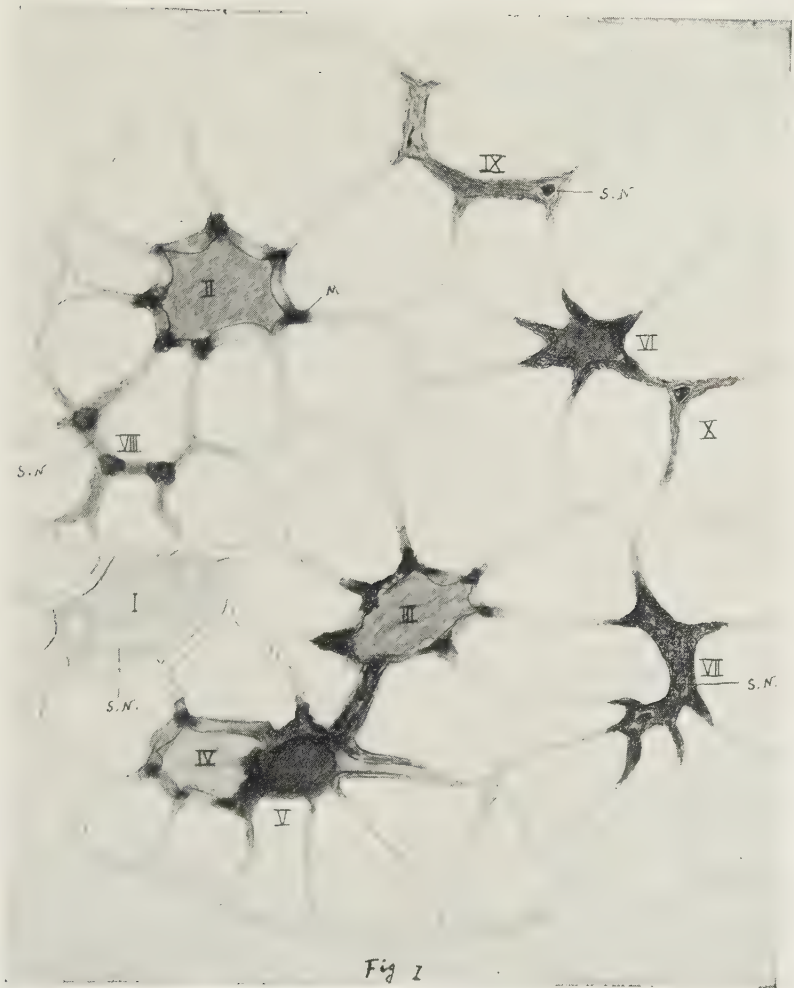


PLANCHE II

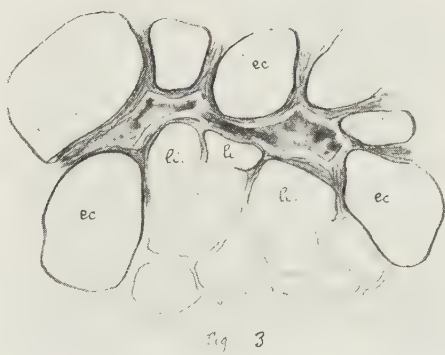
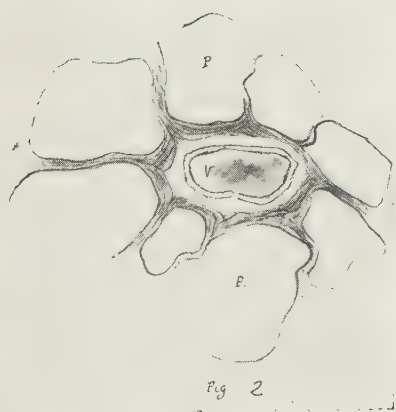
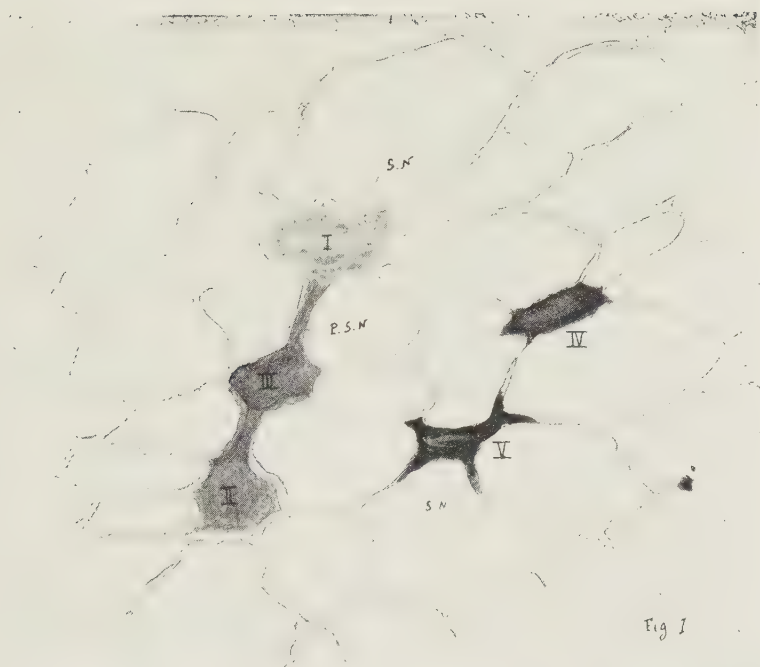


PLANCHE III

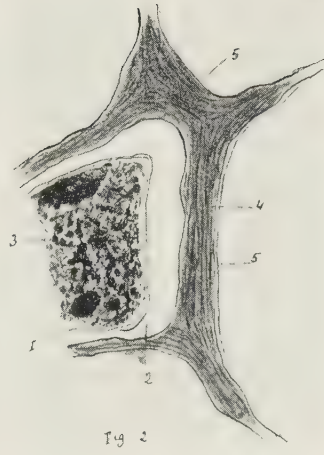
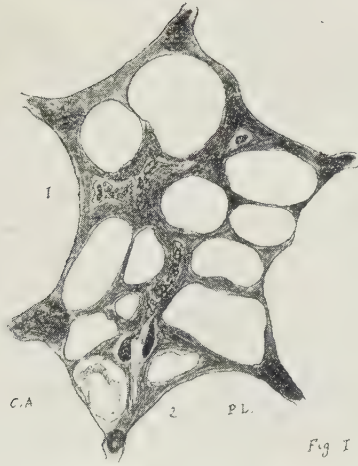


PLANCHE IV

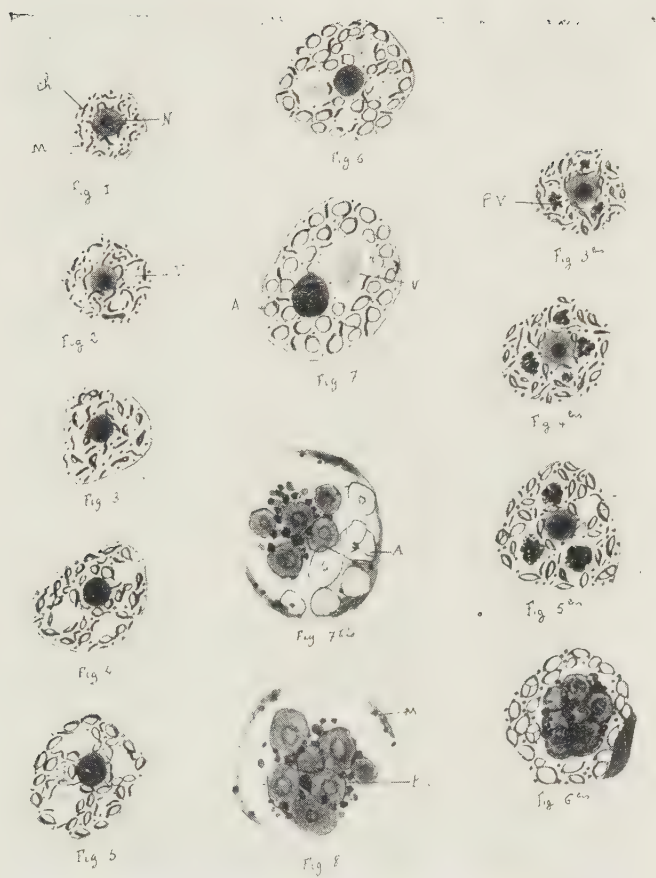


PLANCHE V

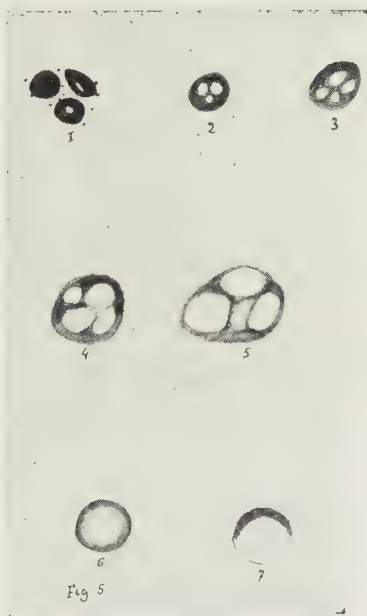


PLANCHE VI

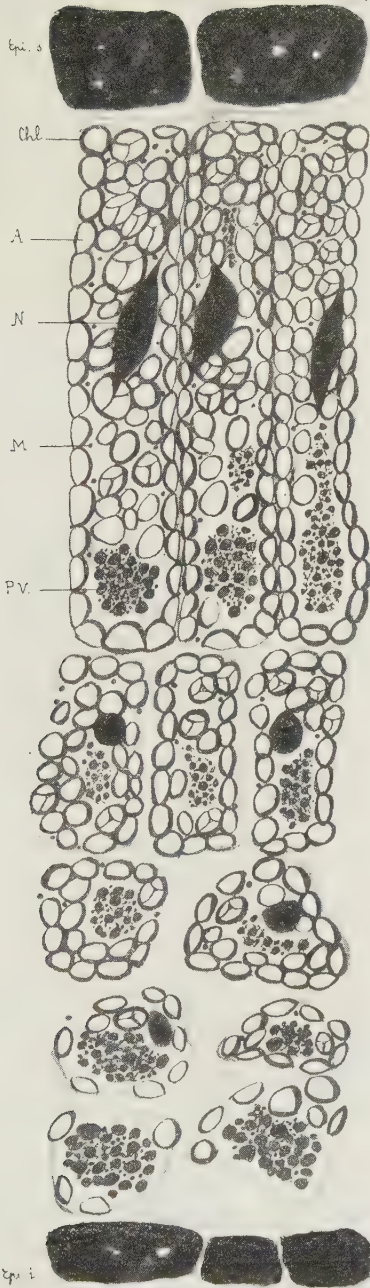


Fig. 2

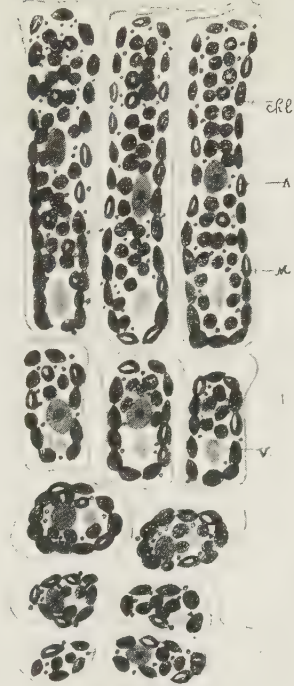


Fig. 1 bis



Fig. 2

Fig. 2 bis

PLANCHE VII

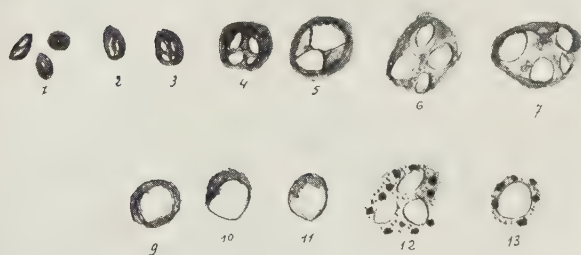
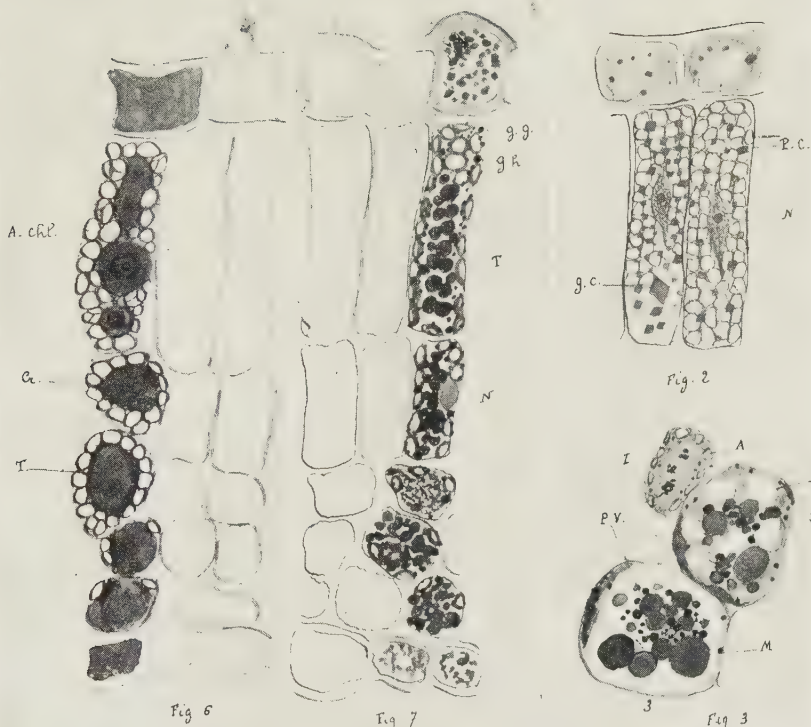


Fig. 1

Fig. 5

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

Spirochètes.

Vu et approuvé :

Paris, le 15 novembre 1928.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

Ch. MAURAIN.

Vu et permis d'imprimer

Le Recteur de l'Académie de Paris.

S. CHARLÉTY.

